

**Aus dem Robert-Bosch-Krankenhaus
Klinik Schillerhöhe
Akademisches Lehrkrankenhaus der Universität Tübingen
Abteilung für Pneumologische Onkologie**

**Einfacher Doppeltracer- Gasauswaschtest bei gesunden
Erwachsenen**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der Medizinischen Fakultät
der Eberhard Karls Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Berg, geb. Hauser, Nina Jasmin

2019

Dekan: Professor Dr. I. B. Autenrieth

1. Berichterstatter: Herr Prof. Dr. H.-G. Kopp

2. Berichterstatter: Herr Privatdozent Dr. E. Sturm, Ph.D.

Tag der Disputation: 11.10.2019

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	3
1.1	Klinische Relevanz und Erkrankungen der kleinen Atemwege	3
1.2	Anatomie und Physiologie des Respirationstrakt.....	4
1.2.1	Der Bronchialbaum.....	5
1.2.2	Die kleinen Atemwege	6
1.2.3	Der Gastransport- und verteilung in der Lunge	7
1.3	Lungenfunktionsdiagnostik der kleinen Atemwege.....	8
1.4	Gasauswaschverfahren.....	12
1.4.1	SBW	14
1.4.2	MBW	17
1.4.3	Double-tracer gas single-breath washout.....	21
2	Hypothese und Ziel der Studie	23
3	Material und Methodik.....	25
3.1	Studienprotokoll	25
3.2	Untersuchungsablauf	26
3.2.1	Einschlusskriterien.....	27
3.2.2	Ausschlusskriterien.....	27
3.3	Lungenfunktionsuntersuchungen	27
3.3.1	Spirometrie	30
3.3.2	Bodypletysmographie	31
3.3.3	Single-Breath-Washout.....	34
3.3.4	Multiple Breath-Washout	35
3.3.5	Double-Tracer-Gas-Single-Breath-Washout	37
3.4	Datenerfassung und statistische Auswertung.....	45
4	Ergebnisse.....	47

4.1	Patientenkollektiv	47
4.2	Übersicht Patientendaten	47
4.3	Ergebnisse der Gasauswaschtests	49
4.3.1	N2-SBW	49
4.3.2	N2-MBW	49
4.3.3	DTG-SBW	49
4.4	Variabilität und Reproduzierbarkeit	51
5	Diskussion	57
5.1	Limitationen.....	60
6	Zusammenfassung	60
7	Veröffentlichungen	63
8	Erklärung zum Eigenanteil der Dissertationsschrift	64
	Literaturverzeichnis	66
	Abbildungsverzeichnis	72
	Tabellenverzeichnis	73

1 Einleitung

1.1 Klinische Relevanz und Erkrankungen der kleinen Atemwege

In den letzten Jahren wuchs das Interesse an der besonderen Bedeutung der kleinen Atemwege (Innendurchmesser $<2\text{mm}$) bei chronisch obstruktiven Atemwegserkrankungen und anderen pulmonalen Erkrankungen. (1–3)

Die charakteristischen Veränderungen bei einer Obstruktion der kleinen Atemwege stellen der vorzeitige Atemwegsverschluss, das air trapping, die regionalen Heterogenitäten und die ausgeprägte Volumenabhängigkeit der Einschränkung des Luftstrom dar. (3)

Die eingehende Erfassung dieser Flusslimitation mittels nichtinvasiver Methoden stellt eine Herausforderung für die Lungenfunktionsanalyse dar. (4)

Die gängigen Lungenfunktionstests wie Spirometrie und Bodyplethysmographie sind nicht sensitiv genug um Fehlfunktionen der kleinen Atemwege zu detektieren. Da diese Untersuchungsmethoden eher fluss- und widerstandsorientiert sind, können sie Funktionsstörungen der kleinen Atemwege schlecht bis nicht aufzeigen, da hier sehr niedrige Flussgeschwindigkeiten herrschen bzw. diese komplett fehlen. (5)

Die Parameter forciertes expiratorisches Volumen in der ersten Sekunde (FEV₁), expiratorischer Spitzenflusses (PEF) und Atemwegswiderstand (Raw) sind nicht spezifisch und sensitiv genug um Pathologien der kleinen Atemwege zu erfassen. Erst wenn es zu einer Verengung der kleinen Atemwege kommt, die 50% übersteigt, kommt es zu einem messbaren Abfall des FEV₁. Auch der Atemwegswiderstand steigt bei einem Verschluss von ca. 50% der kleinen Atemwege nur um 10% an. (5,6)

In der Vergangenheit wurden viele nicht invasive Techniken beschrieben um Informationen über die kleinen Atemwege zu erlangen (3), aber die Realität zeigt, dass bislang kein akzeptabler Lungenfunktionsparameter zur

Beschreibung der Funktion der kleinen Atemwege existiert, (7) weshalb sie auch als „silent zone“ bezeichnet werden. (8,9)

Das Problem ist auch, dass bei einigen, der aktuell zur Verfügung stehenden, vielversprechenden Untersuchungsmethoden verschiedene Gründe, wie zum Beispiel die Zeitdauer der Durchführung oder die technische Komplexität, eine routinemäßige Anwendung in der alltäglichen Praxis verhinderten. (3,7)

1.2 Anatomie und Physiologie des Respirationstrakt

Zu den Atemwegen zählt man die Nase und Nasennebenhöhlen sowie Pharynx, Larynx, Trachea und Bronchien. Der Respirationstrakt kann nach seiner Funktion in das Luftleitungssystem (Luftwege zwischen der Umwelt und den Lungenbläschen) und das Gasaustauschsystem (Lunge) unterteilt werden. Beides wird von einer Übergangszone getrennt. (10, S. 224) Das Luftleitungssystem gliedert sich topographisch in die oberen und unteren Atemwege:

Obere Atemwege (extrathorakale Luftwege):

- Nase mit Nasennebenhöhlen
- Rachen (Pharynx)
- Kehlkopf (Larynx)

Untere Atemwege (intrathorakale Luftwege):

- Luftröhre (Trachea)
- Bronchialbaum

Die Lunge besteht aus der Gesamtheit der Lungenbläschen (Alveolen), den Lungengefäßen und dem Bindegewebe (Interstitium).

Die rechte Lunge wird in einen Ober-, Mittel- und Unterlappen, die linke Lunge in einen Ober- und Unterlappen unterteilt. Die Lungenlappen können zusätzlich noch in einzelne Lungensegmente untergliedert werden. Die Bezeichnung

erfolgt entsprechend der Zuordnung zum versorgenden Bronchialast. 10 Segmente finden sich in der rechten Lunge. Im linken Lungenflügel gibt es nur 9 Segmente, da das 7. Segment fehlt. (11, S. 25)

1.2.1 Der Bronchialbaum

Die Trachea (in Abbildung 1 als 0. Generation bezeichnet) verzweigt sich an ihrem unteren Ende in den rechten und linken Hauptbronchus. Im Anschluss folgt anhand des Weibelschen Lungenmodells erläutert eine symmetrische Aufzweigung der Atemwege bis zu den Alveolen in 23 Generationen (12). Zur Peripherie hin, nehmen die Länge und der Durchmesser der Atemwege kontinuierlich ab, wohingegen der Gesamtquerschnitt des Bronchialsystems stark zunimmt. Dies wird durch Abbildung 2 nach Robinson et al. sehr gut veranschaulicht. Die 23. Generation entspricht den Alveolen.

Die ersten 16 Atemwegsgenerationen dienen ausschließlich dem Transport der Atemluft und werden als luftleitende (konduktive) Atemwege bezeichnet. Die Atemwege nach der 16. Generation stellen die gasaustauschenden (intraacinar) Atemwege dar, da dort der diffusive Gasaustausch stattfindet.

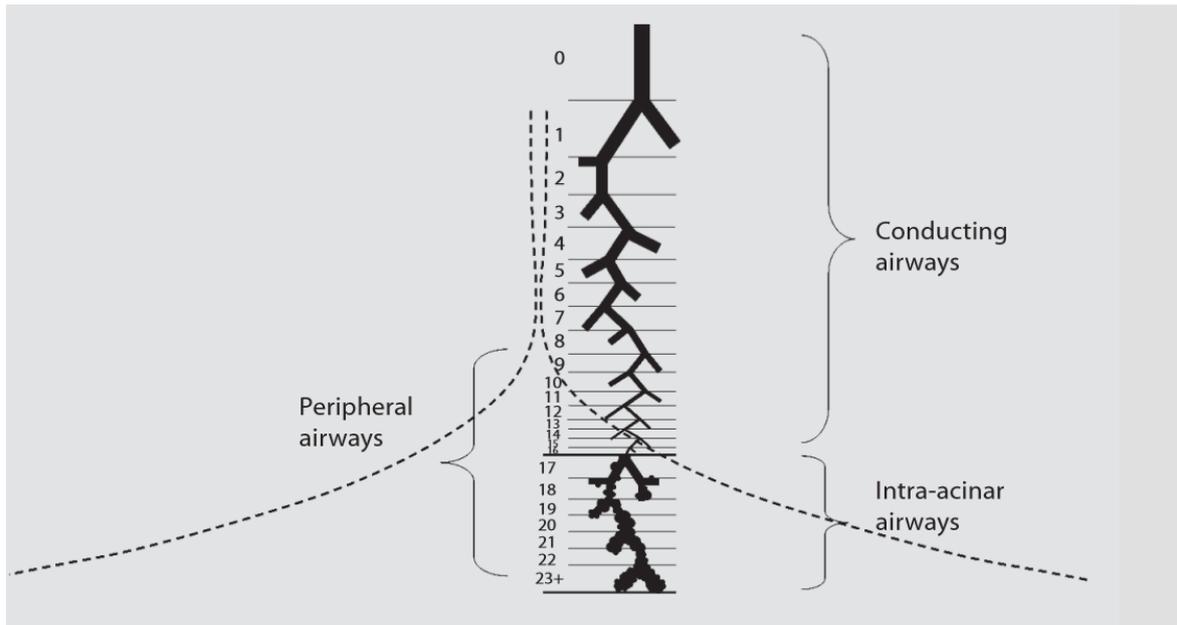


Abbildung 1: Schematische Darstellung des Bronchialbaumes inklusive der Generationen. Die gestrichelte Linie stellt die Querschnittsfläche der Atemwege dar, welche in der Lungenperipherie dramatisch zunimmt. Conducting airways (Konduktive Atemwege), Peripheral airways (Kleine Atemwege), Intra-acinar airways (Intraazinäre Atemwege) (13)
 Mit Nachdruckgenehmigung S. Karger AG vom 28.11.2018

1.2.2 Die kleinen Atemwege

Die großen Atemwege reichen bis zu den Aufzweigungen der Subsegmentbronchien der 8. Generation. (4) Wie in Abbildung 1 gut veranschaulicht, werden die terminalen Bronchien und die Bronchiolen jenseits der 9. Generation mit einem Innendurchmesser von weniger als 2 mm als kleine Atemwege bezeichnet. (14) Sie stellen den mit Abstand größten Teil der Lungenoberfläche dar.

Da der Gesamtquerschnitt des Bronchialsystems von ca. 2,5cm² in der Trachea auf ca. 180cm² auf Höhe der terminalen Bronchiolen (der letzte Abschnitt der luftleitenden Atemwege) ansteigt, (15) erklärt sich durch den höheren Radius auch der zur Peripherie hin abnehmende Atemwegwiderstand. Somit steuern die kleinen Atemwege durch ihren geringen Durchmesser nur ca. 10% des gesamten Atemflusswiderstandes bei. (5,9,16)

Die Bronchiolen beginnen ab der 10. Verzweigungsgeneration. Ihr Durchmesser beträgt zwischen 0,5 und 1mm. Die Wand ist knorpelfrei und reich an glatten Muskelfasern. Das Epithel enthält keine schleimproduzierenden Zellen mehr. (11, S. 27) Es gibt ca. 30.000 terminale Bronchiolen. Ihr Durchmesser beträgt ca. 0,6mm. Bis in die 16. Verzweigungsgeneration sind die Bronchiolen nicht am Gasaustausch beteiligt, sie dienen lediglich dem Lufttransport. Die terminalen Bronchiolen verzweigen sich typischerweise in 2-3 respiratorische Bronchiolen. Diese sind unverwechselbar, weil in ihrer Wand die Alveolen zu sehen sind. Mit den Bronchioli respiratorii beginnt die Gasaustauschzone. Die Muskelfasern werden spärlicher und es gibt zunehmend alveoläre Ausbuchtungen. (11, S. 27) Es gibt ca. 224.000 respiratorische Bronchiolen und für gewöhnlich 3 Generationen. Ein bis zwei Alveoli in den proximalen respiratorischen Bronchiolen und etliche in den distalen. Diese enden in den 13,8 Millionen Ductuli alveolares und ca. 300 Millionen Alveolen.

1.2.3 Der Gastransport- und verteilung in der Lunge

Der Gastransport wird anhand des Weibelschen Lungenmodells erläutert. (12) In den ersten 16 Atemwegsgenerationen, den konduktiven Atemwegen, erfolgt der Gastransport durch Konvektion, d.h. das Gas fließt entlang eines vorhandenen Druckgradienten. Aufgrund des zunehmenden Gesamtquerschnittes in der Lungenperipherie nimmt die Flussgeschwindigkeit des Gases hier kontinuierlich ab. Im Bereich der terminalen und respiratorischen Bronchiolen (ca. 16.-17. Atemwegsgeneration) erfolgt der Gastransport über die Diffusion, d.h. erfolgt über den Konzentrationsgradienten Richtung Alveole. (17)

Gewissen Inhomogenitäten der Gasverteilung durch unterschiedliche Füllung und Entleerung parallel geschalteter Lungeneinheiten im Bereich der konduktiven Atemwege kann man auch in einer gesunden Lunge beobachten (CDI = convection dependant inhomogenity). Auch durch strukturelle

Asymmetrien im Bereich der Übergangszone zwischen Konvektion und Diffusion (DCDI = diffusion-convection dependant inhomogeneity) und durch Einflüsse der Schwerkraft kann es zu Ventilationsinhomogenitäten kommen. (18)

1.3 Lungenfunktionsdiagnostik der kleinen Atemwege

Die **Spirometrie** ist die einfachste und am weitesten verbreitete Methode zur Diagnostik von Obstruktionen der Atemwege. So ist sie zum Beispiel auch für die Diagnostik und auch für die Einteilung der Schweregrade einer chronisch obstruktiven Lungenerkrankung (COPD) erforderlich. (19)

Die Spirometrie kann kontinuierlich zur Messung der Ventilation oder mittels willkürlicher Atemmanöver zur Bestimmung definierter Volumina und Atemstromstärken erfolgen. (20) Es handelt sich hierbei um eine Methode, mit der sich nicht-invasiv und schnell Lungenvolumina und Atemstromstärken bestimmen lassen.

Die typische Befundkonstellation, welche sich spirometrisch bei einer Atemwegsobstruktion zeigt, ist durch eine Einschränkung der ventilatorischen Flussreserven gekennzeichnet. (21) Zu erkennen ist eine obstruktive Ventilationsstörung durch einen erniedrigten Tiffeneau-Index (FEV₁/ FVC). Hierbei befinden sich die Werte unterhalb der 5. Perzentile.

Auch die absolute Einsekundenkapazität ist im Regelfall kleiner als der Normwert und auch die maximalen expiratorischen Atemstromstärken nehmen ab. Im klinischen Bereich spricht wird der Schweregrad der Obstruktion anhand der Einschränkung der FEV₁ ausgedrückt in Prozent des Sollwerts (s. Tabelle 1). (22)

Definition	FEV1 / FVC < LLN		
Schweregrad	I	Leicht	FEV1 > 60% Soll
	II	Mittelgradig	FEV1 40 – 60% Soll
	III	schwer	FEV1 < 40% Soll

LLN = unterer Grenzwert (Z-Score < -1,645 bzw. < 5. Perzentile)

Tabelle 1: Obstruktive Ventilationsstörung

Die Parameter FEV₁, FEV₁/VC und PEF repräsentieren hauptsächlich obstruktive Veränderungen in den zentralen Atemwegen. 1955 beschrieb erstmals Leueallen als einzigen Parameter für die Detektion von Veränderungen der kleinen Atemwege mittels Spirometrie den maximalen expiratorischen Fluss bei 25-75% der forcierten Vitalkapazität (MEF₂₅₋₇₅). Der MEF₂₅₋₇₅ ist definiert als mittlere Atemstromstärke bei 25-75% der forcierten Vitalkapazität und repräsentiert damit den Fluss aus den mittleren und kleinen Atemwegen.

Mc Fadden et al. fanden heraus, dass eine Reduktion des maximalen mittleren expiratorischen Flusses (MMEF) eine spirometrisch zu messende Manifestation einer Erkrankung der kleinen Atemwege darstellt (23) Die hauptsächlich Limitation des MEF₂₅₋₇₅ liegt jedoch in seiner sehr hohen Streubreite welche sich vor allem bei Studien mit großen Patientenkollektiven gezeigt hat. In der Studie von Hansen et al. hat sich gezeigt, dass bei einem festen cut-off-Wert von 80% Soll z.B. ¼ der gesunden Nichtraucher fälschlicherweise als pathologisch eingestuft werden. (24)

Bodyplethysmographie

Wie im weiteren Verlauf im Kapitel Material und Methoden unter 2.3.2 noch näher beschrieben wird, können mittels der Ganzkörperplethysmographie (Bodyplethysmographie) in Erweiterung zur Spirometrie das Residualvolumen (RV), der Atemwegswiderstand, sowie das intrathorakalen Gasvolumen und die Totalkapazität der Lunge bestimmt werden. Siehe hierzu auch Abbildung 4.

Hierbei werden in einer geschlossenen Kammer geringgradige Druck- bzw. Volumenänderungen gemessen.

Mittels der Bodyplethysmographie lassen sich als Hinweise auf Veränderungen der kleinen Atemwege air trapping sowie Hyperinflation erfassen. Air trapping entsteht wie bereits vorher beschrieben als Folge der erniedrigten Wandstabilität der erkrankten kleinen Atemwege. Hierdurch kommt es während der Expiration zu einem vorzeitigen Kollaps der Atemwege, wodurch die eingeatmete Luft nur zum Teil abgeatmet werden kann. In der Bodyplethysmographie kann man als Hinweis auf vorhandenes air trapping ein erhöhtes Residualvolumen (RV) bei nur wenig erhöhter totalen Lungkapazität (TLC) sehen. (25) Eine Hyperinflation ist gekennzeichnet durch eine Erhöhung der funktionellen Residualkapazität (FRC) sowie des Residualvolumen (RV), bzw. der totalen Lungkapazität (TLC). (26)



Abbildung 2: Probandin bei der Durchführung einer Bodyplethysmographie

Die **Impulsoszillometrie** dient zur Früherkennung obstruktiver Atemwegserkrankungen sowie zur Lokalisation dieser (zentral, peripher, extra-/intrathorakal). Dies wird erreicht durch die Messung des Gesamt-

Atemwegswiderstandes mithilfe von impulsförmigen Schwingungen. Im Anschluss wird die Antwort der Atemwege hierauf analysiert (Relation von Impulsdruck und –strömung).

Bei der Impulsozillometrie werden dem Atemstrom pumpengetriggerte Luftoszillationen aufgeprägt. (21)

Die Strömung (V') sowie der Munddruck (P) werden von Sensoren welche an einem Pneumotachographen angeordnet sind erfassen. Zusätzlich wird ein komplexer Atemwegswiderstand als Impedanz (Z) über einer Frequenzskala aufgezeichnet. Die Impedanz (Z) enthält den reellen Strömungswiderstand (Resistance R) und einen imaginären Blindwiderstand (Reactance X) welcher die thorakopulmonale Dehnbarkeit und die Massenträgheit der bewegten Luftsäule widerspiegelt. Aufgrund der multifrequenten Impulse werden Resistance R und Reactance X über ein Frequenzspektrum von 5 und 35 Herz (Hz) aufgezeichnet. Da nur niedrige Frequenzen ($< 5\text{Hz}$) die kleinen Atemwege erreichen repräsentieren R und X bei niedrigen Frequenzen die kleinen Atemwege. Durch den Verlauf von R und X bei verschiedenen Frequenzen kann man zentrale von peripheren Obstruktionen unterscheiden. Bei peripheren Obstruktionen besteht eine deutlich erhöhte Resistance vor allem im Niederfrequenten Bereich. Das Reactancespektrum (X_5) befindet sich vor allem in den Bereichen mit niedrigen Frequenzen ($R_5 > R_{20}$) unterhalb des Normalen. Die Reactance gilt als Hinweis für die Wandeigenschaften der kleinen Bronchien. (27,28)

Die Studie von Cavalcanti hat jedoch gezeigt, dass der Wert der Resistance vor allem im niederfrequenten Bereich bei Asthmapatienten mit zunehmendem Schweregrad progredient ist. (29) Eine Einschränkung dieser Methode stellt dar, dass bisher wenige Daten zur eindeutigen Begutachtung der kleinen Atemwege zur Verfügung stehen.

Ein wichtiger Vorteil ist jedoch, im Vergleich zu anderen hier auch aufgeführten Methoden der Diagnostik der kleinen Atemwege die hohe Sensitivität in Bezug auf den allgemeinen Nachweis von Atemwegsobstruktionen. Zudem ist die

Messung einfach durchzuführen und setzt eine geringe Patientenkooperation voraus.



Abbildung 3: Probandin bei der Durchführung einer Impulsoszillometrie

1.4 Gasauswaschverfahren

Die ersten Gasauswaschtests wurden bereits im Jahre 1940 von Darling et al. durchgeführt. Seit dieser Zeit, sind sie als ergänzende Methode in der Lungenfunktionsdiagnostik bekannt (30). Ihr Einsatz in der Klinik, konnte jedoch in der Vergangenheit aufgrund des großen technischen und analytischen Aufwandes nicht realisiert werden. (13)

In der Vergangenheit war das Vorhandensein eines Massenspektrometers der Goldstandard während der Durchführung von Gasauswaschtests. Da dies jedoch spezielle technische Fähigkeiten erfordert, konnten die Gasauswaschtests nur im Rahmen einer Forschungssituation durchgeführt werden.

Heutzutage stehen aber durch Fortschritte in der Computertechnik und der Entwicklung von leistungstärkeren Gassensoren kommerzielle Geräte zur Durchführung von Gasauswaschtests zur Verfügung, (31–33). Dieses neue, kommerziell verfügbare Equipment ermöglicht den Einsatz von

Gasauswaschverfahren sowohl in der Forschung, als auch im klinischen Bereich.

2013 wurde ein internationales Konsensdokument veröffentlicht, welches einen wichtigen Schritt der Entwicklung in diese Richtung darstellt. Inhalt dieses Dokumentes sind Empfehlungen für die Standardisierung von Gerätetechnik, Durchführung und Auswertung von Gasauswaschtests. Dies zeigt, dass nun praktikable Protokolle erstellt und Daten zur Reproduzierbarkeit erhoben werden sollten (34). Aktuelle Daten zeigen, dass Gasauswaschverfahren ein erfolgsversprechendes Verfahren darstellen.

Gasauswaschtests messen die Gleichmäßigkeit der Ventilation durch Detektion der Konzentration eines Tracergases während der Ein- bzw. Ausatmung.

Durch die natürliche Struktur einer gesunden Lunge kommt es zu einer annähernd gleichmäßigen Verteilung des Atemgases nach der Inspiration. Bei der Expiration wird das zurückbleibende Gasgemisch gut durchmischt. Bei Krankheitsprozessen, die eine ungleichmäßige Verengung der Bronchien bedingen, kommt es zu einer ungleichmäßigen Verteilung und Durchmischung von Gasen (inhomogene Ventilation).

Diese Ventilationsinhomogenitäten, sowohl der konduktiven großen und kleinen Atemwege, als auch die der azinären Zone, welche durch Dysfunktionen der kleinen Atemwege hervorgerufen werden, können mittels Gasauswaschverfahren erfasst werden. (13,27)

Eingesetzt werden hierfür inerte Gase. Dies sind Gase, welche nicht am Gasaustausch teilnehmen, annähernd unlöslich in Blut sowie Gewebe sind und in den verwendeten Konzentrationen nicht toxisch. Beispiele sind die externen inerten Gase Helium, Schwefelhexafluorid oder Methan. Diese Gase werden zunächst über ein oder mehrere Atemzüge eingewaschen, dann wird durch vorgeschriebene Atmung von Raumluft das Gas wieder abgeatmet. Als Auswaschkurve bezeichnet man die Aufzeichnung der Konzentration gegenüber dem exhalieren Volumen. Bei der Verwendung von Stickstoff (N_2) als inertes Gas ist keine Einwaschphase notwendig, da dieser bereits in der Umgebungsluft und somit in der Lunge vorhanden ist. Die Auswaschung erfolgt

sofort durch Atmung von reinem Sauerstoff. Man nennt diese Methode Stickstoffauswaschtest.

Das Auswaschen eines einzelnen Tracer Gases während des ruhigen Atemflusses nennt man Multiple-breath washout (MBW).

Als weiterer Test existiert der single-breath washout (SBW), welcher für gewöhnlich ein Vitalkapazitätsmanöver erfordert.

Im Vergleich zum MBW, ist der Untersuchungsablauf bei der Durchführung des SBW kürzer, erfordert jedoch eine gute Koordination und Kooperation des Patienten um das Vitalkapazitätsmanöver mit einem konstanten Fluss durchzuführen.

Bei Erkrankungen, welche isoliert die kleinen Atemwege betreffen, können Gasauswaschtests Ventilationsinhomogenitäten bei ansonsten, in der herkömmlichen Lungenfunktionsdiagnostik unauffälligen Parametern detektieren. Somit eignen sich Gasauswaschverfahren insbesondere für Verlaufskontrollen von Erkrankungen der kleinen Atemwege aber auch in der Frühdiagnostik von Atemwegserkrankungen. (35) Gasauswaschverfahren ermöglichen bei Erwachsenen den frühzeitigen Nachweis von einer Mitbeteiligung der kleinen Atemwege bei Rauchern. (36) Des Weiteren könnten sie ein Marker für den Umbau der kleinen Atemwege bei Asthma sein. (37) Sie zeigen auch eine hohe Sensitivität in Bezug auf die Detektion früher Stadien eines Bronchiolitis obliterans Syndrom. (38)

1.4.1 SBW

Das einfache Stickstoffauswasch-Verfahren (SBW) beinhaltet ein Vitalkapazitätsmanöver, welches bei einem langsamen konstanten Atemfluss durchgeführt wird. Der Ablauf der Untersuchung erfolgt in 3 Schritten. Sie beginnt mit der Ausatmung bis zum Residualvolumen, gefolgt von der Einatmung von 100% Sauerstoff bis zum Erreichen der Totalkapazität der Lunge. Abschließend ist beim SBW die Ausatmung von der Totalkapazität der Lunge bis zum Residualvolumen erforderlich. Die exhalierte

Stickstoffkonzentration wird gemessen und im Anschluss als typisches Expirogramm (siehe Abbildung 4) gegen das exhalierbare Volumen aufgezeichnet. Die Stickstoffauswaschkurve lässt sich in 4 Phasen unterteilen:

Phase I: Abatmung des Totraumgases, Phase II: Mischung aus den zentralen Atemwegen, Phase III: Alveolarplateau, Phase IV: Closing volume.

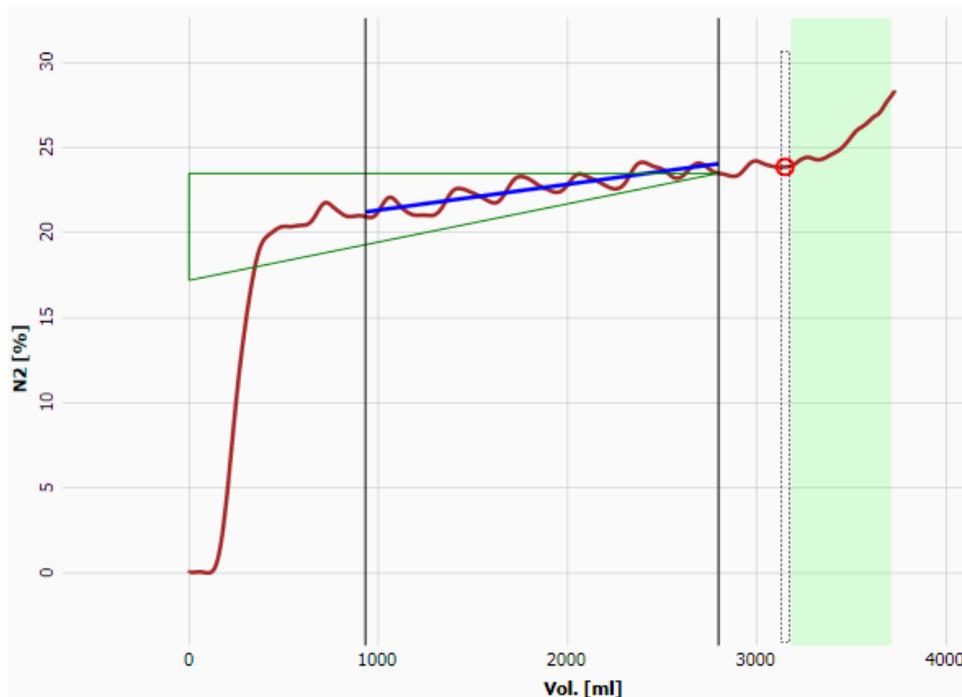


Abbildung 4: Single Breath Washout

Bei Gesunden entsteht nach Abatmung des Totraumgases (Phase I) und der Mischung aus den zentralen Atemwegen (Phase II) ein Alveolarplateau (Phase III).

Das Alveolarplateau zeigt einen etwas ansteigenden Verlauf. Ganz zuletzt kann man eine sehr starke Steigung erkennen. An diesem Übergang, beginnt der Verschluss der kleinen Atemwege. Der Kurvenverlauf ergibt sich dadurch, dass hier eine relativ große Menge an stickstoffhaltiger Luft ausgeatmet wird. Das nach Beginn des Verschlusses noch exhalierbare Volumen wird als Closing volume (CV) bezeichnet, die Summe von RV und CV als Closing capacity. (39)

Der Hauptparameter um Ventilationsinhomogenitäten zu beschreiben stellt bei dieser Methode die Steigung in der Phase III dar.

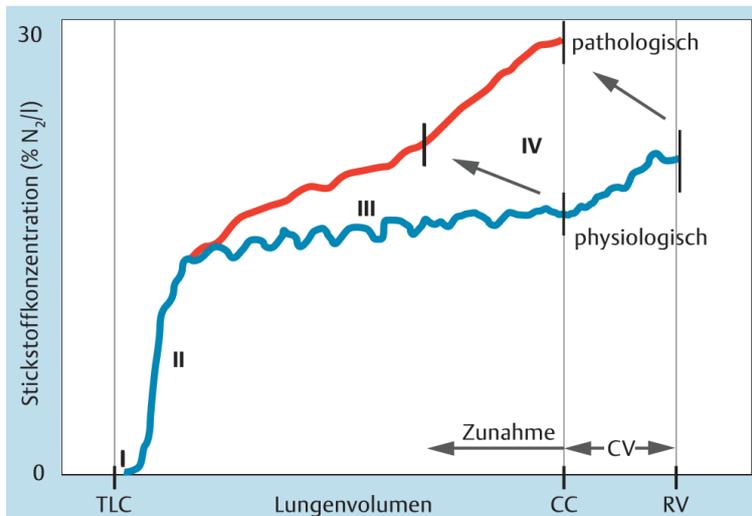


Abbildung 5: Einfacher Stickstoffauswaschtest nach Robinson 2009.(4) Die blaue Kurve zeigt den typischen Befund einer normalen SB-N₂-Kurve. Die rote Kurve gibt einen pathologischen Befund bei peripherer Obstruktion mit frühzeitigem Verschluss der kleinen Atemwege wieder: die Steigung in Phase III (dN₂) ist ebenso wie CV und CC erhöht.

Im Allgemeinen beginnt der Verschluss der kleinen Atemwege bei gesunden Erwachsenen im Bereich nach ca. 80-90% der abgeatmeten Vitalkapazität. Bei Personen, welche an einer Erkrankung der kleinen Atemwege leiden, kommt es durch die daraus folgende Obstruktion der kleinen Atemwege zu einer inhomogenen Ventilation. (4) Hierdurch kommt es wie in Abbildung 5 dargestellt zu einem frühzeitigeren Verschluss der kleinen Atemwege, was zu einer Erhöhung der Steigung in der Phase III (dN₂) und ebenso des CV und CC führt. In sehr ausgeprägten Fällen kann es möglich sein, dass das CV nicht bestimmbar ist, da der Beginn des Verschlusses der basalen Atemwege in der Stickstoffauswaschkurve durch die hochgradige Obstruktion nicht deutlich zur Darstellung kommt.

Der klassische N₂-SBW ist ein Test mit relativ kurzer Zeitdauer, aber das Atemmanöver ist etwas kompliziert und nicht leicht zu erlernen. Für die Durchführung ist eine gute Kooperation und Koordination von Seiten des Probanden/Patienten die Grundvoraussetzung.

Der Hauptparameter, welcher in unserer Studie nach Durchführung des N₂-SBW ausgewertet wurde, war die Steigung in der Alveolarphase. Diese wird zwischen 25 und 75 % des abgeatmeten Volumens bestimmt (40). Die Steigung der Phase III ist ein allgemeiner Parameter, welcher Ventilationsinhomogenitäten widerspiegelt, die in den Atemwegen allgemein entstehen. Somit kann er nicht zwischen Ventilationsinhomogenitäten der konduktiven und azinären Atemwege differenzieren. Ein abgewandelter Ansatz des Single-Breath-Washout-Verfahrens, mit Inspiration des inerten Gases von der FRC würde die Ventilationsinhomogenitäten und die Mitbeteiligung der kleinen Atemwege während der Spontanatmung besser widerspiegeln. (41)

1.4.2 MBW

Das mehrfache Stickstoffauswasch-Verfahren (MBW) wird während der ruhigen Spontanatmung durchgeführt und detektiert Ventilationsinhomogenitäten bei der funktionellen Residualkapazität. Im Detail wurde die Durchführung dieses Verfahrens bereits durch Gustafsson (42) und Verbanck et al. (43,44) beschrieben.

Nach dem Einwaschen des tracer-gas-Gemisches, erfolgt das Umschalten auf Raumluft. Während des Auswaschvorganges wird die Gaskonzentration aufgezeichnet bis die endtidale Konzentration 1/40 der Anfangskonzentration erreicht hat. Für den mehrfachen Stickstoffauswaschtest (mit Stickstoff als inertem Gas) benötigt man keine Einwaschperiode und der Proband atmet direkt 100% Sauerstoff während der Auswaschphase.

Der wichtigste Parameter, welche die gesamten Ventilationsinhomogenitäten beschreibt, ist der Lung Clearance Index (LCI). Er ist definiert als Anzahl der lung volume turnovers (Verhältnis des kumulierten expiratorischen Volumens

zur funktionellen Residualkapazität) um die Konzentration des Tracer Gases in Lunge des Probanden auf $1/40$ der Ausgangskonzentration zu senken.

Der mehrfache Stickstoffauswaschtest beginnt mit dem Atmen von Raumluft. Dies ermöglicht dem Probanden, das gleichförmige, ruhige Atemmuster mit einer Einatmung von ca. 1 Liter über der funktionellen Residualkapazität einzuüben. Sobald ein gleichmäßiges Atemmuster erreicht ist, wird die Zufuhr von Raumluft während des Auswaschverfahrens durch reinen Sauerstoff ersetzt. Ein MBW umfasst ca. 20-30 1-Liter-Atemzüge von reinem Sauerstoff. Derweil werden Volumen und Stickstoff-Signale kontinuierlich aufgezeichnet. Der Test wird fortgeführt, bis die endexpiratorische Stickstoffkonzentration von 80% auf 2%, also auf $1/40$ der Ausgangskonzentration gefallen ist. (siehe Abbildungen 6 und 7)

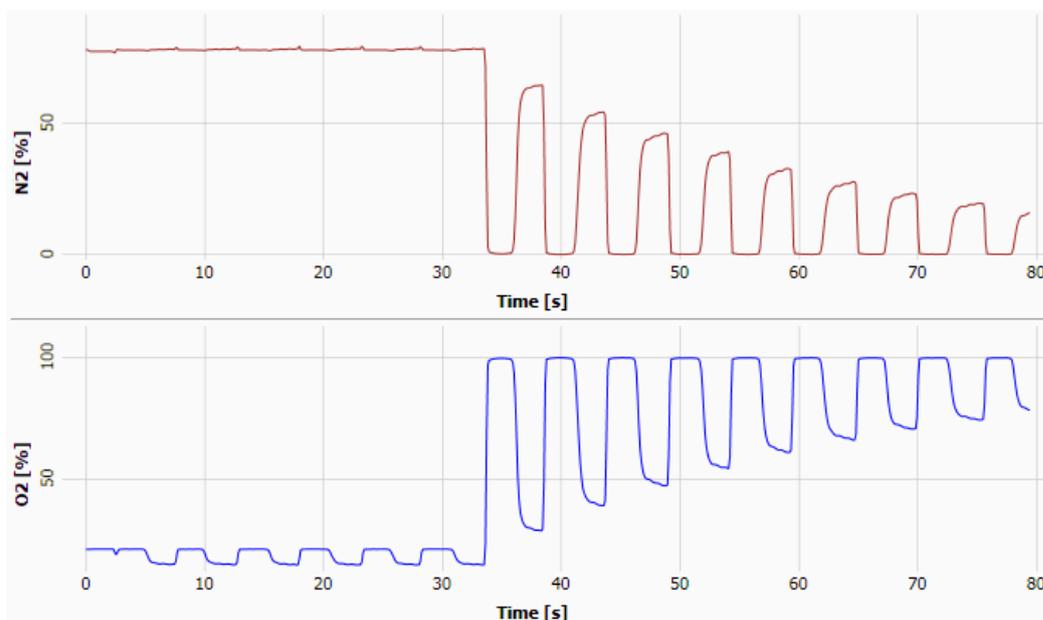


Abbildung 6: Beginn eines Multiple-Breath-Washout

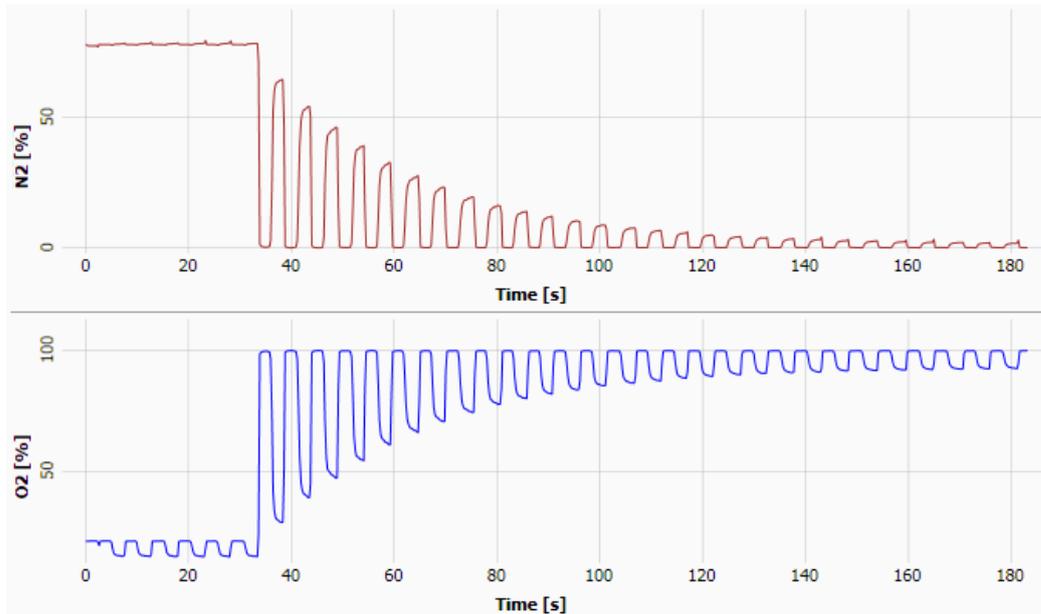


Abbildung 7: Ende eines N₂-MBW

Als Parameter wurden die Funktionelle Residualkapazität (FRC) und der Lung clearance Index (LCI) bestimmt. (siehe Tabelle 3: Definition der im Rahmen des SBW und MBW gemessenen Parameter)

Die funktionelle Residualkapazität wird berechnet indem man das gesamte expirierte Stickstoff-Volumen (um die wieder aufgenommene Stickstoffmenge korrigiert) und durch die endexpiratorische Stickstoffkonzentration dividiert.

$$FRC = \frac{V_{N_2wo}}{C_{N_2air} - C_{N_2ewo}}$$

Den Lung clearance Index (LCI) erhält man indem man das kumulierte expiratorische Volumen durch die funktionelle Residualkapazität teilt.

$$LCI = \frac{V_{oexp}}{FRC}$$

Der wichtigste Outcome Parameter beim MBW stellt der LCI dar, welcher globale Ventilationsinhomogenitäten widerspiegelt und somit einen sehr stabilen, reproduzierbaren Wert darstellt. (27)

Zusätzlich kann eine sogenannte Phase-III-Analyse durchgeführt werden (42,43) Dabei wurden für jeden Atemzug die Stickstoffkonzentration gegen das

gesamte in- und expirierte Volumen aufgetragen. Die Steigung des Alveolarplateaus (Phase III) wird berechnet als kleinstes Quadrat im Intervall von 60-95% des expirierten Volumens. Dann wurde die Steigung von dem mittleren expirierten Volumen in diesem Intervall der Expiration (60-95% des expirierten Volumens) normalisiert.

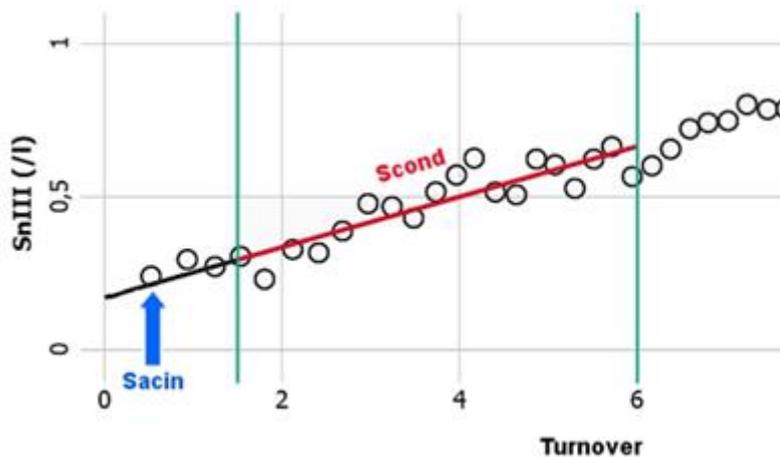


Abbildung 81: Analyse der Steigung von Phase III

Diese normalisierte Steigung wurde dann als eine Funktion von Lung turnover grafisch dargestellt (SnIII-Kurve). Hieraus konnten im Anschluss zwei Parameter berechnet werden: Scond und Sacin. Diese repräsentieren den Beitrag der konduktiven bzw. azinären Atemwege an Inhomogenitäten bei der Ventilation.

Scond ergibt sich aus dem Zuwachs der Steigung der SnIII-Kurve zwischen dem 1,5. und 6. Lung turnover welche mit Hilfe linearer Regression berechnet wurde. Dieser Wert repräsentiert die Homogenität der Ventilation in den konduktiven Atemwegen (CDI). Sacin zeigt die VI in den azinären Atemwegen an (DCDI). Dort befindet sich die gasaustauschende Zone. Sacin wird wie folgt berechnet: erster Atemzug von SnIII - (erster Atemzug TO * Scond).(13)

Die detaillierte Analyse der Steigung in Phase III eines jeden Atemzuges während des MBW könnte zwischen dem Beitrag der konduktiven bzw.

azinären Atemwege an Inhomogenitäten bei der Ventilation unterscheiden (18) und damit letztendlich einen Einblick in die Lokalisation der Pathologien der kleinen Atemwege geben. (13)

1.4.3 Double-tracer gas single-breath washout

Die Tracer-Gase Schwefelhexafluoride und Helium wurden einzeln schon im Rahmen zahlreicher Studien während Multiple- und Single-Breath-Washout-Tests eingesetzt. Daten über den simultanen Einsatz dieser zwei Gase bei erwachsenen Patienten sind jedoch rar. (38,41,45)

Die Gründe für die parallele Verwendung von zwei Tracer-Gasen mit signifikant unterschiedlichen molekularen Massen, ist die Detektion der spezifischen Ventilationsinhomogenitäten der distalen Atemwege. Der Beitrag von Ventilationsinhomogenität, welche abhängig ist von Konvektion, ist bei Helium und Schwefelhexafluoride mutmaßlich gleich, aber der Teil der von Konvektion und Diffusion abhängt unterscheidet sich bei He und SF₆. Diese Unterschiede befinden sich vermutlich in der Lungenperipherie, genauer gesagt in den präazinären und den azinären Atemwegen.

Bereits 1981 wurde das Verhalten dieser beiden Gase anhand eines asymmetrischen Lungenmodells von de Vries genauer betrachtet. (46) Auch Paiva et al. beschäftigten sich mit dem Gastransport von He und SF₆ in der Lunge. (47)

Durch das in Abschnitt 1.2.2 und 1.2.3 bereits näher erläuterte asymmetrische Lungenmodell und den dadurch bedingten Gastransport in der Lunge wird klar, dass das mit einer molaren Masse von 146, schwerere SF₆ schlechter bzw. schwieriger diffundiert und dadurch tiefer in den Acinus gelangt. Die Diffusions-Konvektions-Front ist dadurch mehr peripher gelegen, als die des besser diffusiblen und von der molaren Masse her leichteren Heliums. Je weiter peripher man sich in der Lunge befindet, desto mehr Aufzweigungen existieren. Hierdurch repräsentiert SF₆ Heterogenitäten der Ventilation mehr intraazinär, folglich resultiert hier auch ein steilerer Slope als für das leichtere Helium.

(siehe Abbildung 9) Die Konvektion-Diffusions-Front für Helium ist im Gegensatz dazu vor dem Eingang in den Acinus, das heißt in den kleinsten konduktiven Atemwegen lokalisiert.

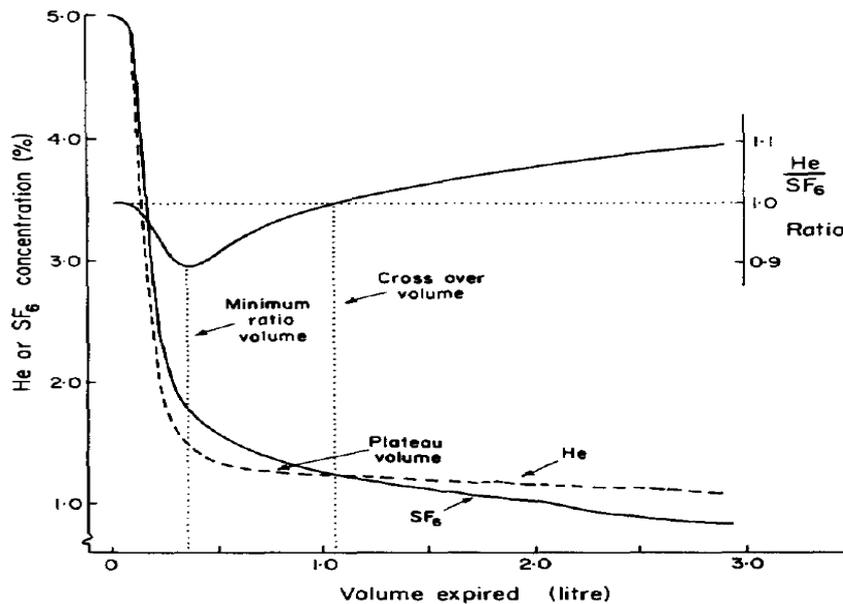


Abbildung 9: SF₆ und He- Exspiogramm (48)

Folglich führt eine Erkrankung, welche im Bereich der intraazinären Atemwege liegt, zu einer Veränderung des Exspiogrammes von SF₆, da in diesem Bereich die Konvektions-Diffusionsfront dieses Gases gelegen ist. Diese würde in Abbildung 9 zu einem steileren Slope III von SF₆ führen.

Ein in den respiratorischen Bronchiolen gelegener Krankheitsprozess beeinflusst hingegen eher das Auswaschsignal für Helium und resultiert in einem steileren Slope III. Es resultiert eine Abnahme der Differenz zwischen der beiden Slopes bzw. kann sogar eine Umkehr der beiden Auswaschkurven bewirken.

Ein Double-Tracer-Gasgemisch von Helium und Schwefelhexafluorid während eines Single-Breath-Washout-Test war in der Lage diskrete funktionelle Änderungen der kleinen Atemwegen von Rauchern zu erfassen, welche durch strukturelle Veränderungen dieser hervorgerufen wurden. (41)

Des Weiteren konnten mittels dieses Verfahrens frühe Stadien der obliterativen Bronchiolitis nach Lungentransplantation (38) und assoziierte bronchiale Hyperreaktivität bei Erwachsenen (46) nachgewiesen werden.

2011 wurde im Rahmen einer Projektstudie eine neue Technik eingeführt. Ein modifizierter Double-tracer-Gas-Single-Breath-Washout-Test mit Helium und Schwefelhexafluorid (DTG-SBW), bei dem ein Ultraschall-Flowmeter (USFM) zum Einsatz kam. Hierbei konnte gezeigt werden, dass die Signale der Molaren Masse des Ultraschall-Flowmeters die Washout-Kurven von SF₆ und He widerspiegelt, welche mittels eines Massenspektrometers in der exhalieren Luft gemessen wurden. (33)

Die Daten des neuen DTG-SBW sind vergleichbar mit Daten von distalen Ventilationsinhomogenitäten die mittels MBW bei Kindern mit Cystischer Fibrose ermittelt wurden. Die Studie zeigte, dass der DTG-SBW einfacher und kürzer in seiner Durchführung ist, verglichen mit dem MBW (mittlere Zeit für die Durchführung 3.3 min im Vergleich zu 29.9 min für die 3 Versuche beim MBW) und eine höhere Erfolgsquote hatte (92% verglichen mit 82% in MBW) (46)

Dementsprechend könnte der DTG-SBW bei erwachsenen Patienten eine einfache alternative anstelle des konventionellen SBW oder MBW darstellen.

2 Hypothese und Ziel der Studie

Auswaschtests mit inerten Gasen sind ein einfaches nicht invasives Werkzeug um air Trapping und Ventilationsinhomogenitäten aufgrund von ungleichmäßig verteilten Verengungen der kleinen Atemwege genauer zu untersuchen (13)

Seit 2011 ist ein einfacher Doppeltracergas-Auswaschtest (DTG-SBW) als neue, praktikable Gasauswaschtest-Variante beschrieben, der für die Diagnostik von Erkrankungen der kleinen Atemwege im Alltag geeignet sein könnte (1). Dabei wird während eines Ruheatemzuges ein Gasgemisch mit 26,3% Helium- und 5% SF₆-Anteil eingeatmet, bei der Ausatmung die molare Masse (MM) mittels Ultraschallsensor als Summensignal aufgezeichnet.

Aufgrund der sehr einfachen und schnellen Durchführung könnte dieser Test Vorteile für die Routineanwendung im Vergleich zu den bekannten, klassischen Gasauswaschtests haben. Ziel der Arbeit ist, die Praktikabilität und Reproduzierbarkeit des einfachen DTG-SBW kurz- und längerfristig im Vergleich zum klassischen einfachen und mehrfachen Stickstoffauswaschtest (N_2 -SBW, N_2 -MBW) zu beurteilen. Im Rahmen einer Beobachtungsstudie soll in einem Kollektiv von 40 erwachsenen, gesunden Nichtrauchern über einen Zeitraum von insgesamt 6 Monaten alle 3 Gasauswaschvarianten parallel gemessen werden.

Postuliert wird, dass der einfache Doppeltracer-Gasauswaschtest einfacher und praktikabler als die bisher etablierten Verfahren des einfachen und mehrfachen Stickstoffauswaschtests ist und damit ein interessantes Verfahren für die alltägliche klinische Diagnostik darstellt.

Im Vergleich zum mehrfachen Stickstoffauswaschtest ist der Untersuchungsaufbau des einfachen Stickstoffauswaschtests kürzer, erfordert jedoch eine gute Koordination und Kooperation um das Vitalkapazitätsmanöver mit einem konstanten Atemfluss auszuführen.

3 Material und Methodik

3.1 Studienprotokoll

Die Studie ist als eine monozentrische, prospektive, klinische Beobachtungsstudie zur Untersuchung der kurzzeitigen und langfristigen Variabilität und Reproduzierbarkeit des klassischen N₂-SBW und klassischen N₂-MBW im Vergleich zu einem neuen modifizierten Ruheatmung DTG-SBW bei gesunden Erwachsenen konzipiert.

Nach einer mündlichen Information zur klinischen Prüfung und einer schriftlichen Einwilligungserklärung durchlief jeder Proband eine routinemäßige Lungenfunktionsprüfung (Spirometrie und Bodyplethysmographie). Daraufhin folgten drei N₂-MBW-Tests, drei N₂-SBW-Tests und drei DTG-SBW tests. Die Wiedervorstellung erfolgte nach einer Woche, einem Monat und sechs Monaten wiederum mit einer routinemäßigen Lungenfunktion, drei N₂-MBW-Tests, drei N₂-SBW-Tests und drei DTG-SBW Tests.

Prozeduren	Termin 1	Termin 2	Termin 3	Termin 4
	Tag 0	1 Woche	1 Monat	6 Monate
Schriftliche Einverständniserklärung	X			
Einschluss- und Ausschlusskriterien	X			
Kurze Anamnese		X	X	X
Spirometrie	X	X	X	X
Bodyplethysmographie	X	X	X	X
N2-SBW	X	X	X	X
N2-MBW	X	X	X	X
DTG-SBW	X	X	X	X

Tabelle 2: Ablaufplan der Begutachtung für gesunde Erwachsene

Somit wurden die Parameter von maximal vier Untersuchungsterminen pro Studienteilnehmer statistisch ausgewertet.

Die Probandenrekrutierung erfolgte zwischen März 2012 und September 2012. Das Studienprotokoll wurde durch die Ethikkommission des Robert-Bosch-Krankenhauses Stuttgart genehmigt.

Alle Patienten gaben ihr schriftliches Einverständnis zur Teilnahme an der Studie.

Sämtliche Lungenfunktionsuntersuchungen wurden im Lungenfunktionslabor der Klinik Schillerhöhe in Gerlingen durchgeführt.

3.2 Untersuchungsablauf

Die Rekrutierung, Aufklärung sowie der Einschluss der Probanden in die Studie erfolgte in der Lungenfunktionsambulanz der Klinik Schillerhöhe Gerlingen entsprechend der Ein- und Ausschlusskriterien des Studienprotokollsrotokolls.

3.2.1 Einschlusskriterien

- Gesunde Erwachsene ohne Lungenvorerkrankungen 18-70 Jahre
- Nichtraucher oder ehemalige Raucher < 5PY und Rauchverzicht > 1Jahr
- Keine respiratorische Infektion in den letzten 3 Monaten

3.2.2 Ausschlusskriterien

- Alter < 18 Jahre
- Keine schriftliche Einwilligungserklärung
- Schwangerschaft
- Schwere kardiale Vorerkrankung
(Hypertrophe Kardiomyopathie, Zustand nach Myokardinfarkt, Schwerer Herzfehler, Tachyarrhythmie)

3.3 Lungenfunktionsuntersuchungen

Bei sämtlichen Probanden wurden im Laufe der Studie an vier Terminen Lungenfunktionsuntersuchungen durchgeführt.

Die routinemäßigen Lungenfunktionstests (Spirometrie und Bodyplethysmographie) wurden mit Standardequipment für Lungenfunktionslaboratorien (JAEGER[®], Master Screen[®], Cardinal Health, Höchberg) nach vorhandenen Empfehlungen durchgeführt.

Die folgenden Parameter wurden erfasst: Totale Lungenvolumenkapazität (TLC), Residualvolumen (RV), Forcierte Vitalkapazität (FVC), Langsame Vitalkapazität (SVC), Einsekundenkapazität (FEV₁), Funktionelle Residualkapazität (FRC PLETH).

Diese Werte wurden anhand der von der European Coal and Steel Community entwickelten Gleichungen bestimmt.

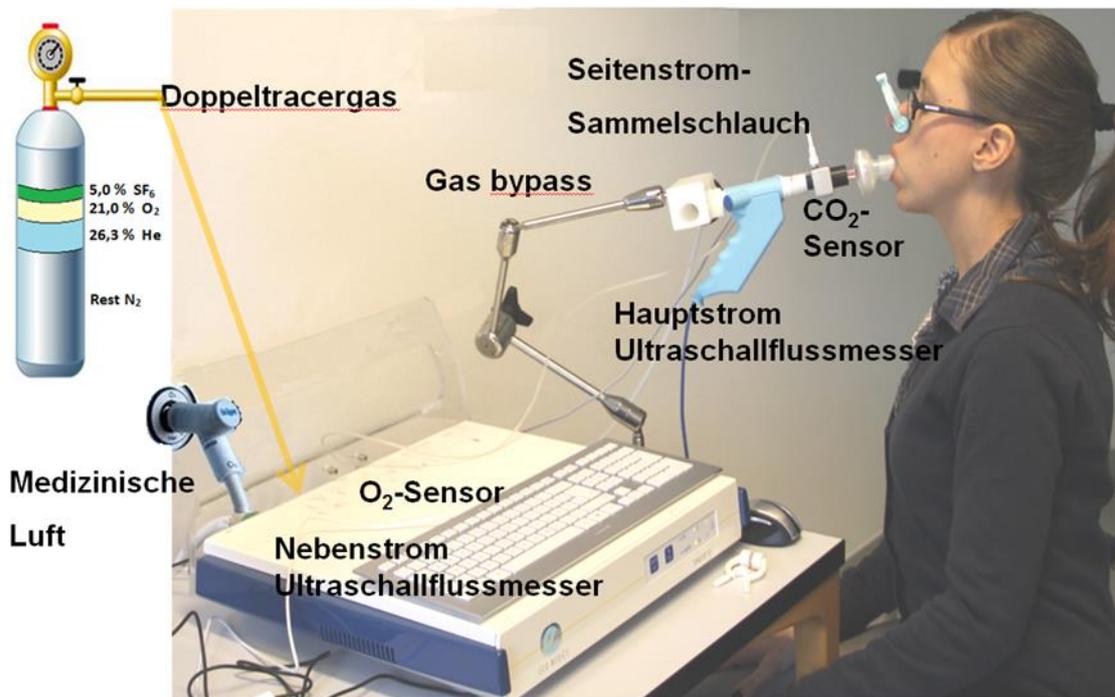


Abbildung 10: Versuchsaufbau zur Durchführung der Gasauswaschtests (Gerät: EXHALYZER®D)

Als Arbeitsgerät für alle Gas Auswaschtests kam das im Handel erhältliche Ultraschall-Durchflussmessgerät (USFM) (Exhalyzer D, Eco Medics AG, Duernten, Schweiz) zum Einsatz. (siehe Abbildung 10) Das Ultraschallflowmeter misst Molmassensignale im Nebenstrom mit einem Abtastungsfluss von 200ml/min durch einen Nafion H Schlauch, welcher es ermöglicht die Umgebungstemperatur- und Feuchtigkeit ins Gleichgewicht zu bringen.

Die Messgenauigkeit betrug 0.01g/mol mit einer Abtastungsfrequenz von 200Hz. Atemflüsse und die davon abgeleiteten Volumina wurden im Atemgashauptstrom mit Hilfe des Messkopfes (USFM) ermittelt.

Die Analyse der Gasaswaschtests erfolgte mit der Spiroware Software, welche mit dem Ultraschallflowmeter zur Verfügung gestellt wurde (WBreath3.28; nnd Medical Technologies, Schweiz).

Die Parameter sind auf BTPS-Bedingungen (BTPS = body temperature pressure saturated) normiert, d.h. die erhobenen Daten gelten für 37°C und

100% relative Feuchte beim gegebenen Luftdruck. Expiratorische Lungenvolumina werden demzufolge direkt erfasst, während inspiratorische Größen, für die ATPS-Umgebungsbedingungen gelten, (ATPS = ambient temperature pressure) auf BTPS korrigiert werden müssen. (20)

Im Vorfeld der Messungen wurde der Ultraschallflowmeter für inspiratorische- und expiratorische Volumen mittels einer Kalibrationspumpe kalibriert.

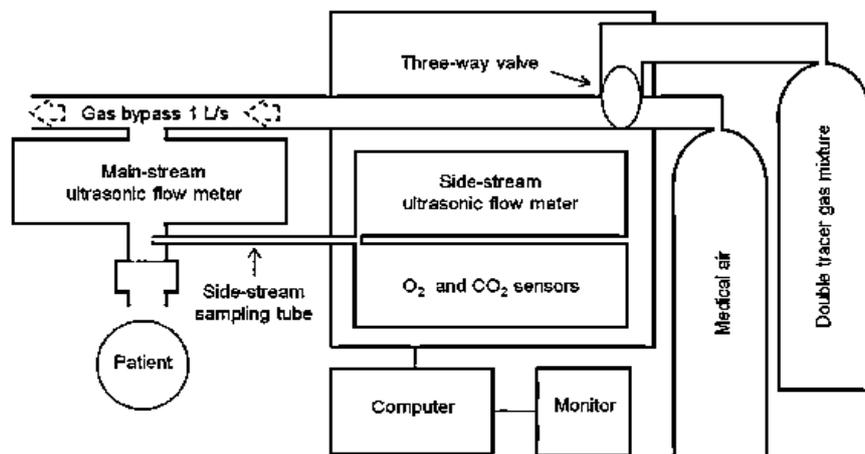


Abbildung 11: Ultraschallflowmeter Aufbau für DTG-SBW (33)

Mit Nachdruckgenehmigung vom 24.10.2018

Im Anschluss an eine präzise Einweisung durch einen autorisierten Untersucher, fanden alle Testungen in aufrecht sitzender Position des Probanden statt. Des Weiteren wurde auf eine gleichförmige Atmung der Probanden geachtet.

Alle Messungen wurden bei, mit einer Nasenklemme verschlossenen oberen Atemwegen und Atmung über ein Mundstück durchgeführt. Um Undichtigkeiten und somit Fehlbestimmungen zu vermeiden wurden die Probanden angewiesen, das Mundstück vollständig mit den Lippen zu umschließen.

3.3.1 Spirometrie

Unter Spirometrie versteht man die Messung von Lungenvolumina am Mund. Sie kann kontinuierlich zur Messung der Ventilation oder mittels willkürlicher Atemmanöver zur Bestimmung definierter Volumina und Atemstromstärken erfolgen. (20)



Abbildung 12: Probandin bei der Durchführung einer Spirometrie

Es handelt sich hierbei um eine Methode, mit der sich nicht-invasiv und schnell Lungenvolumina und Atemstromstärken bestimmen lassen. Der besondere Wert der Spirometrie liegt in der Diagnostik obstruktiver Ventilationsstörungen.

Die Spirometrie wurde entsprechend den Standard-Empfehlungen der europäischen und amerikanischen pulmonologischen Fachgesellschaft ERS und ATS durchgeführt. Sämtliche, bei der Spirometrie und Bodyplethysmographie ermittelten Werte wurden anhand der, von der European Respiratory Society (ERS) festgelegten Qualitätskriterien hin überprüft. (49,50)

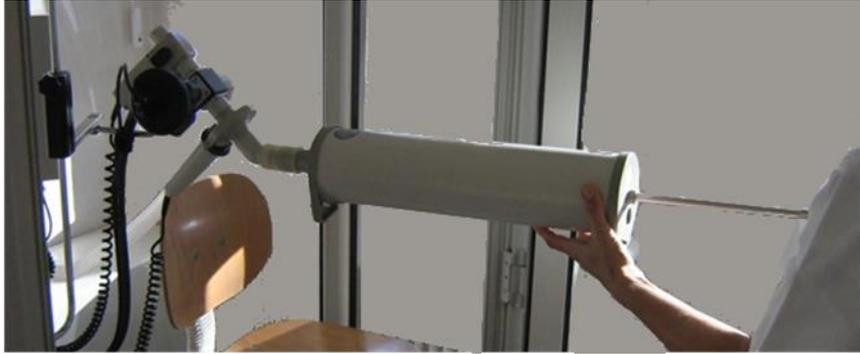


Abbildung 13: Volumen/Strömungskalibration mit 3l-Eichpumpe

Bei Nichterfüllung dieser Kriterien wurde die Untersuchung erneut durchgeführt.

Die Parameter wurden durch Druckdifferenzmessung mittels eines Pneumotachographen erhoben. Hierbei wird ein definierter Widerstand in die Atemströmung des Probanden eingebracht, wodurch ein Abfall des Druckes hervorgerufen wird, welcher vom Atemfluss abhängt. Die daraus hervorgehende Druckdifferenz wird in elektrische Spannung umgewandelt und verhält sich proportional zur Atemströmung. Durch Einbeziehung der Spannung über die Zeit, kann hiermit zusätzlich das Volumen bestimmt werden.

Bei der Spirometrie werden charakteristisch die Flussgeschwindigkeiten gegen das Volumen, sowie die Volumenänderungen gegen die Zeit aufgezeichnet und dementsprechend als Fluss-Volumen- und Volumen-Zeit-Kurve dargestellt.

3.3.2 Bodyplethysmographie

Mittels der Ganzkörperplethysmographie (Bodyplethysmographie) lassen sich in Erweiterung zur Spirometrie der Atemwegswiderstand, sowie das intrathorakalen Gasvolumen und die Totalkapazität der Lunge bestimmen.

Während der Messung sitzt der Proband in einer Kabine (geschlossenes System) und atmet Luft, welche sich außerhalb der Kammer befindet. Bei Inspiration führt die Zunahme des Lungenvolumens zu einer Kompression der

Kammerluft und damit zu einem Anstieg des Kammerdruckes. Die Zunahme des Kammerdruckes entspricht der Druckabnahme in der Lunge. (51)

Die indirekt bestimmte Druckdifferenz zwischen Lunge und Außenwelt sowie die am Mundstück gemessene Volumenstromstärke werden in Form von Druck-Strömungskurven (Atemschleifen) dargestellt. Die Steigung der Kurve entspricht dem Atemwegswiderstand (Resistance), welcher sich durch das Ohmsche Gesetz berechnen lässt.

Das thorakale Gasvolumen (funktionelle Residualkapazität) wird am Ende der Expiration gemessen und entspricht dem Volumen, welches sich nach normaler Expiration noch im Körper befindet. Es wird anhand des Boyle-Mariotteschen Gesetzes bestimmt und heutzutage auch als FRCpleth bezeichnet.

Hierzu wird während der Messung durch Betätigung des Shutters für einen kurzen Augenblick der Atemstrom automatisch verschlossen. Der hierbei gemessene Munddruck entspricht dem alveolären Druck. Der Patient versucht nun gegen den Widerstand ein- und auszuatmen, was zu Änderungen im Kammer- und Mund-/alveolären Druck führt. Die Verschlussdruckkurve ergibt sich durch Aufzeichnung der Änderungen von Mund- zu Kabinendruck. Die Steilheit des Verschlussdruckwinkels entspricht demnach dem thorakalen Gasvolumen. Je kleiner der Verschlussdruckwinkel, d.h. je flacher die Kurve, desto höher ist das intrathorakale Gasvolumen.

Parameter	Definition	Einheit	Messmethode
Forcierte Vitalkapazität (FVC)	Atemvolumen, welches nach kompletter Inspiration forciert maximal ausgeatmet werden kann	l	Spirometrie
Langsame Vitalkapazität (SVC)	inspiratorische Vitalkapazität (IVC) = "langsame" Vitalkapazität: inspiratorisch gemessene Vitalkapazität. Volumen, welches nach maximaler Expiration eingeatmet werden kann	l	Spirometrie
Einsekundenkapazität (FEV ₁)	Einsekundenkapazität: Volumen, welches nach maximaler Inspiration unter stärkster Anstrengung schnellstmöglichst in der ersten Sekunde ausgeatmet werden kann	l	Spirometrie
Maximale expiratorische Atemstromstärke (MEF ₂₅₋₇₅)	Flussgeschwindigkeit (Flow) im Volumenabschnitt 75 - 25 % der noch auszuatmenden forcierten Vitalkapazität	l/s	Spirometrie
Totale Lungenkapazität (TLC)	Gasvolumen, welches sich nach maximaler Inspiration in der Lunge befindet. Sie ist die Summe aus Residualvolumen (RV) und Vitalkapazität (VC)	l	Bodyplethysmographie
Residualvolumen (RV)	Volumen, das nach maximaler Expiration noch in der Lunge verbleibt und nicht abgeatmet werden kann.	l	Bodyplethysmographie
Spezifischer totaler Atemwegswiderstand (sR _{tot})	Gerade zwischen maximalem in- und expiratorischen Druckpunkt der Atemschleife	kPa*s	Bodyplethysmographie
Funktionelle Residualkapazität (FRC _{PLETH})	Volumen, welches sich nach normaler Expiration noch in der Lunge befindet, also das expiratorische Reservevolumen und das Residualvolumen	l	Bodyplethysmographie

Tabelle 3: Definition der gemessenen Lungenfunktionsparameter (10)

3.3.3 Single-Breath-Washout

Der SBW-Test wurde wie in Abschnitt 1.4.1 beschrieben durchgeführt.

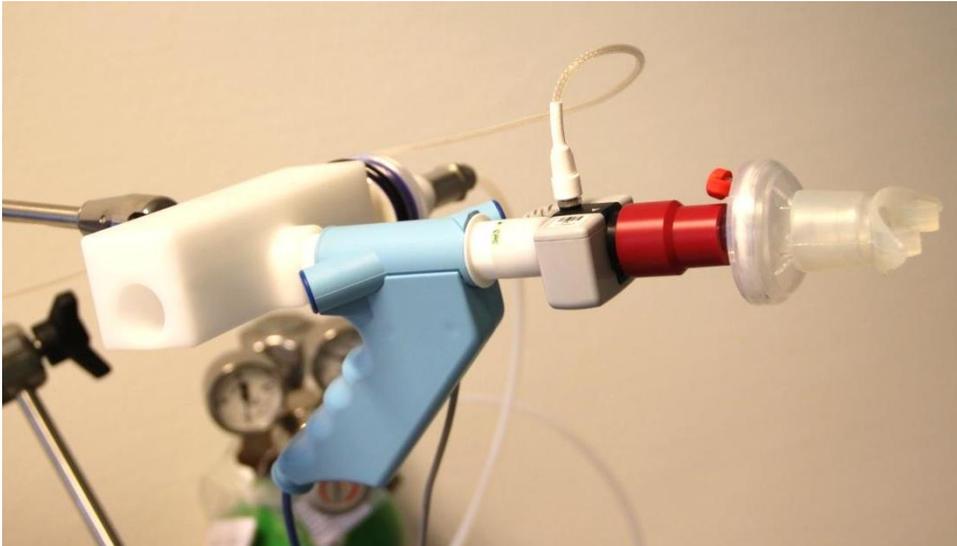


Abbildung 14: Aufbau eines Single-Breath-Washout

Während unseres Studienablaufes wurden die Probanden geschult einen konstanten Atemfluss von ca. 0,5l/sec beizubehalten. Die Stickstoffkonzentration wurde während der Ausatmung gegen die Volumenänderungen zwischen der Totalen Lungenkapazität und dem Residualvolumen aufgetragen. Als Hauptparameter wurde die Steigung (dN_2) des Alveolarplateau zwischen 25-75% des abgeatmeten Volumens von einem Computer aus der Ausgleichsgeraden durch die Phase III der Expirationsvolumen –Konzentrations-Kurve berechnet. (52,53)

Der Punkt der ersten Abweichung von dieser Geraden wurde von einem Computer festgelegt. Dieser bestimmte den Berührungspunkt zwischen den Steigungen, welcher das Closing volume repräsentiert und somit ein Hinweis für den Verschluss der Atemwege ist. (53) Folgende Parameter wurden berechnet: Closing Volume (CV; Phase IV) und Closing Capacity (CC = Residualvolumen + Closing Volume).

Es wurden 3 Testdurchläufe mit im Anschluss jeweils mindestens 3 minütiger Pause durchgeführt. Diese Pause war für die Normalisierung der alveolären

Stickstoffkonzentration zwingend erforderlich. Ein Testdurchlauf wurde als akzeptabel eingestuft, wenn sich kein Hinweis auf eine Leckage ergab. Auch zwischen der in- und expiratorischen Vitalkapazität durfte es nicht zu Abweichungen kommen, welche mehr als 10% betragen.

3.3.4 Multiple Breath-Washout



Abbildung 15: Probandin bei der Durchführung eines Multiple-Breath-Washout

Der Stickstoff-MBW wurde wie in Abschnitt 1.4.2 beschrieben durchgeführt. Wie beim N_2 -SBW gab es 3 Testdurchläufe pro Testsitzung. Zwischen den einzelnen Testdurchläufen hielten wir eine Pause von mindestens 5 Minuten ein. Bevor ein neuer Testdurchgang begonnen wurde, stellten wir sicher, dass alle von uns erfassten Signale (insbesondere die Stickstoffwerte) wieder das initiale Niveau erreicht hatten. Ein Testdurchlauf wurde als akzeptabel bewertet, wenn der Patient während der gesamten Zeit die entspannte Ruheatmung durchgeführt hatte, die Fluss-Volumen-Kurven geschlossen waren und es kein Hinweis auf Leckagen im Sinne von einem plötzlichen Anstieg der Stickstoffkonzentration gab. Auch die Werte der FRC zwischen den einzelnen Tests durften nicht um mehr als 25% voneinander abweichen. Aufgrund des

Konsensus-Dokumentes und der darin enthaltenen Empfehlungen (40) korrigierten wir die Werte für dN_2 , S_{cond} und S_{acin} mittels Multiplikation mit (V_t) . Daraus ergibt sich $dN_2 \times VC$ expiratorisch, $S_{cond} \times V_t$ und $S_{acin} \times V_t$.

	Definition	Einheit	Methode
Closing volume	Das bei Expiration nach Beginn des Verschlusses der kleinen Atemwege noch exhalierbare Volumen	l	SBW
Closing capacity	Die Summe von Residualvolumen (RV) und Closing volume		SBW
Steigung Alveolarplateau (dN_2)			SBW
Funktionelle Residualkapazität (FRC)	Volumen, welches sich nach normaler Expiration noch in der Lunge befindet, also das expiratorische Reservevolumen und das Residualvolumen	l	MBW
Lung clearance index (LCI)	Maß für die Geschwindigkeit der Abatmung eines Gases im Verhältnis zur Luftmenge, die am Ende einer normalen Expiration in der Lunge verbleibt.		MBW
Lung turnover (TO)	Gesamtes expiriertes Volumen dividiert durch die funktionelle Residualkapazität		MBW
S_{cond}	Homogenität der Ventilation in den konduktiven Atemwegen (Generation 0-15)		MBW
S_{acin}	Homogenität der Ventilation in den konduktiven Atemwegen (Generation 0-15)		MBW

Tabelle 4: Definition der im Rahmen des SBW und MBW gemessenen Werte (10)

3.3.5 Double-Tracer-Gas-Single-Breath-Washout

Der einfache Doppelgastest wurde mit dem im Handel erhältlichen Ultraschall-Durchflussmessgerät (USFM) (Exhalyzer D, Eco Medics AG, Duernten, Schweiz) und der zugehörigen Software für die Datenaufzeichnung durchgeführt. Der Untersuchungsaufbau, die Messung, sowie die Datenanalyse wurden initial von Singer et al. beschrieben. (33)

Das verwendete Doppelgas enthält Sauerstoff (21%), Stickstoff (47,7%), Helium (26,3%) und Schwefelhexafluorid (5,0%) und hat somit die gleiche molare Masse wie trockene medizinische Luft ($28,9 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$). Das Gasgemisch wurde von der Westfalen AG (Münster, Deutschland) bereitgestellt.

Die Atemflüsse und die davon abgeleiteten Volumen wurden im Hauptstrom mittels eines Ultraschallflowmeter gemessen. Eine Gasprobe welche mit einer kontinuierlichen Geschwindigkeit von 200ml/min über einen Nafion-Schlauch zu einem zweiten Ultraschallflowmeter ausgeleitet wird dient zur Bestimmung des Molaren Massen Signal im Seitenstrom (MMss) mit einer Frequenz von 200 Hz. (33,54) Es besteht ein Infrarot-CO₂-Sensor im Hauptstrom und ein Sauerstoff-Laser-Sensor im Seitenstrom. Die Atemflüsse und davon abgeleitete Volumen wurden mit der Körpertemperatur, dem Umgebungsdruck und Wasserdampf (BTPS) umgerechnet. Im Vorfeld der Messung wurde das Ultraschallflowmeter für in- und expiratorische Volumen mit einer Präzisionspumpe kalibriert.

Die Probanden atmen normale Umgebungsluft welche von einem Nebenstrom mit 1l/sec in einem offenen Kreislauf bereitgestellt wird. Ein in das Mundstück integrierter Bakterienfilter sowie ein Nasenclip wurden ebenfalls verwendet.

Nach mindestens fünf normalen Atemzügen wird das Doppelgasgemisch für einen einzigen Atemzug bis zur funktionellen Residualkapazität in den Atemstrom hinzugegeben. In der Phase vor Hinzugabe des Doppelgases, während der Doppelgas- in- und expiration und während der folgenden Inspiration wurde die Molare Masse im Seitenstrom und die Atemströme im Hauptstrom mit Hilfe eines Ultraschall-Flow-meters, sowie das Kohlendioxid und Sauerstoff Signal gemessen.

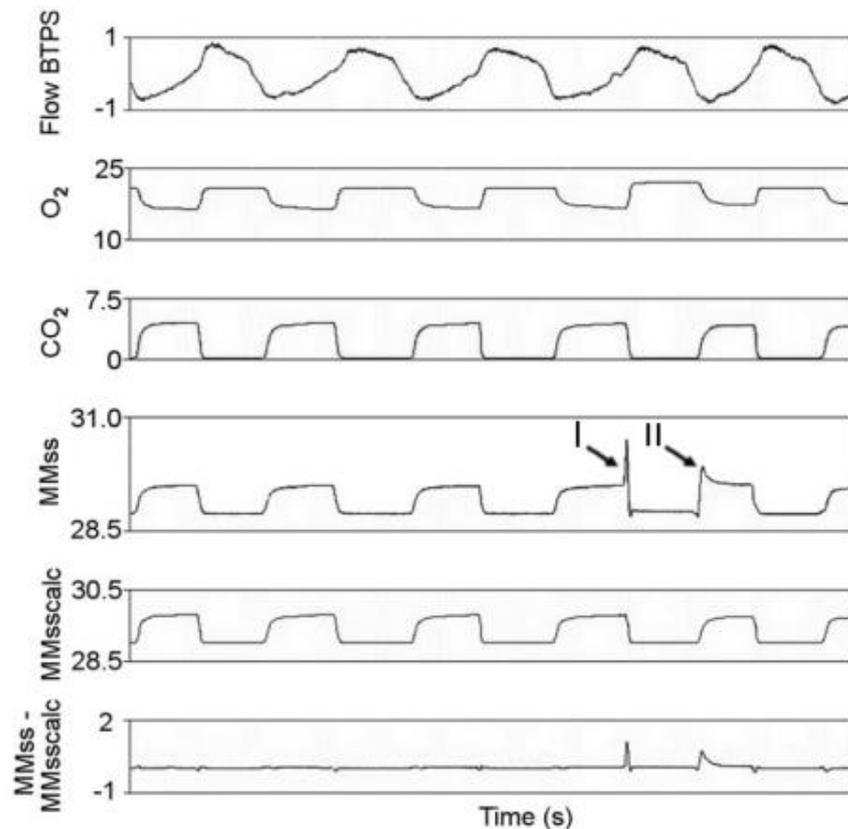


Abbildung 16: Synchronisierte Rohdaten des DTG-SBW. Flow (BTPS, L/s)=Atemfluss, O₂-concentration (%)=Sauerstoffkonzentration, CO₂-concentration (%)=CO₂-Konzentration, molar mass signal measured in sidestream mode (MMss, g/mol)=Signal der molaren Masse im Nebenstrom, calculated molar mass signal (MMcalc, g/mol)=Kalkuliertes Signal der Molaren Masse, difference signal (MMss-MMcalc, g/mol)=endgültiges DTG-SBW-Signal. (I) Beginn der Inspiration des Double-Tracer Gases, (II) Die darauffolgende Expiration zeigt ein Signal der Molaren Masse (MMss-signal) welches von dem Signal während einer normalen Exhalation abweicht (MM-signal).

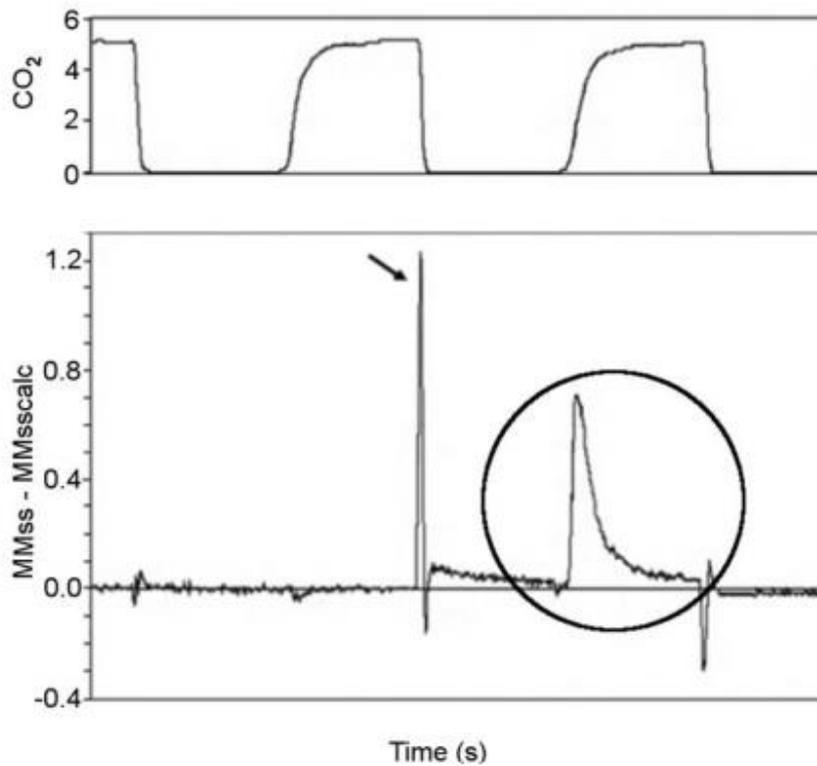


Abbildung 17: DTG-Test signal. Oben zeigt die Abbildung das CO₂-Signal und unten das Signal der Differenz zwischen der kalkulierten Molaren Masse (MMcalc) und der gemessenen Molaren Masse (MMss), welches korrespondierend zu dem eigentlichen finalen DTG-Signal ist. (im Kreis dargestellt) Die kleinen Artefakte im Differenzsignal zwischen In- und expiration sind auf Berechnungsverzerrungen während der Flussumkehr zurückzuführen. Im Moment der Inspiration des double-tracer-Gases ist ein positiver Ausschlag zu erkennen welcher durch die Gasverteilung durch den technischen Aufbau zu erklären ist. (Pfeil)

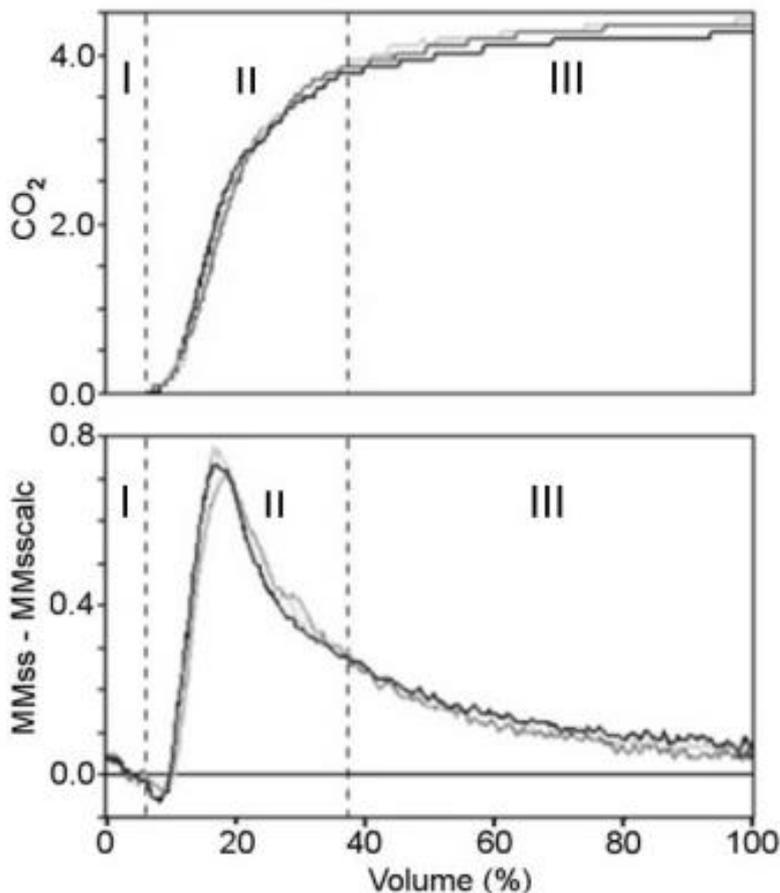


Abbildung 18: Typisches Double-Tracer-Signal eines gesunden Erwachsenen. Die Abbildung beinhaltet die drei Expirogramme während einer Test-Sitzung. Oben zeigt die Abbildung das CO_2 -Signal (%) und unten das finale DTG-Signal ((MMss-MMsscalc (g/mol)). CO_2 (%) und MMss-MMsscalc (g/mol) wurden hier gegen das abgeatmete Volumen aufgetragen (% des totalen exhaliierten Volumens. Phase I: Abatmung des Totraumgases, Phase II: Mischung aus den zentralen Atemwegen, Phase III: Alveolare Phase).

Der Test wurde insgesamt dreimalig wiederholt. Zwischen den einzelnen Testdurchläufen mussten insgesamt mindestens 10 Atemzüge von Raumluft erfolgen. Wir nehmen an, dass das molare Massensignal während der Ausatmung des Doppelgases von dem Anteil des kumulativen Kohlendioxid, Schwefelhexafluorid und Helium abhängt. Durch Subtraktion des Molaren Massen Signal welches durch den Anstieg der Kohlendioxidkonzentration

beschrieben wird, erhält man ein analysierbares Testsignal welches den Schwefelhexafluorid und Helium washout widerspiegelt.

Hierfür haben wir während der Vortestphase (mindestens 5 Atemzüge), der Doppelgas In- und Expiration und der folgenden Inspiration die Rohdaten analysiert und synchronisiert (Atemfluss, CO₂, O₂ und MM_{ss}).

In der Annahme, dass die Form der natürlichen Molaren Masse vor allem von der abgeatmeten CO₂-Fraktion abhängt, entwickelten wir einen automatisierten Algorithmus welcher die voraussichtliche Molare Masse jedes Atemzuges vorausberechnet (MM_{sscalc}). Hierfür wurde das Programm Labview verwendet.

Das heißt das CO₂-Signal wurde vor Beginn des Test mit Hilfe der linearen Regression in ein zusätzliches Signal der Molaren Masse umgewandelt (kalkuliertes Signal der molaren Masse (MM_{calc})). Während dem Test wird nun das kalkulierte Signal der molaren Masse (MM_{calc}) von dem reinen Signal der molaren Masse (MM_{ss}) subtrahiert. Das gewonnene Signal der molaren Masse (MM_{ss}) während der Ausatmung des Doppelgas-Gemisches spiegelt somit das anfallende Auswaschverhalten von Helium und Schwefelhexafluorid wieder. (33) Das endgültige Testsignal ist die Differenz zwischen dem reinen Signal der Molaren Masse und dem kalkulierten Molaren Massen Signal.

Unter Anbetracht des Kohlendioxid-Expirogrammes kann auch das Doppelgas Expirogramm in die 3 klassischen Phasen des Atemzuges eingeteilt werden (Phase I: Totraum, Phase II: Bronchiale und transbronchiale Phase und Phase III: Alveolare Phase)

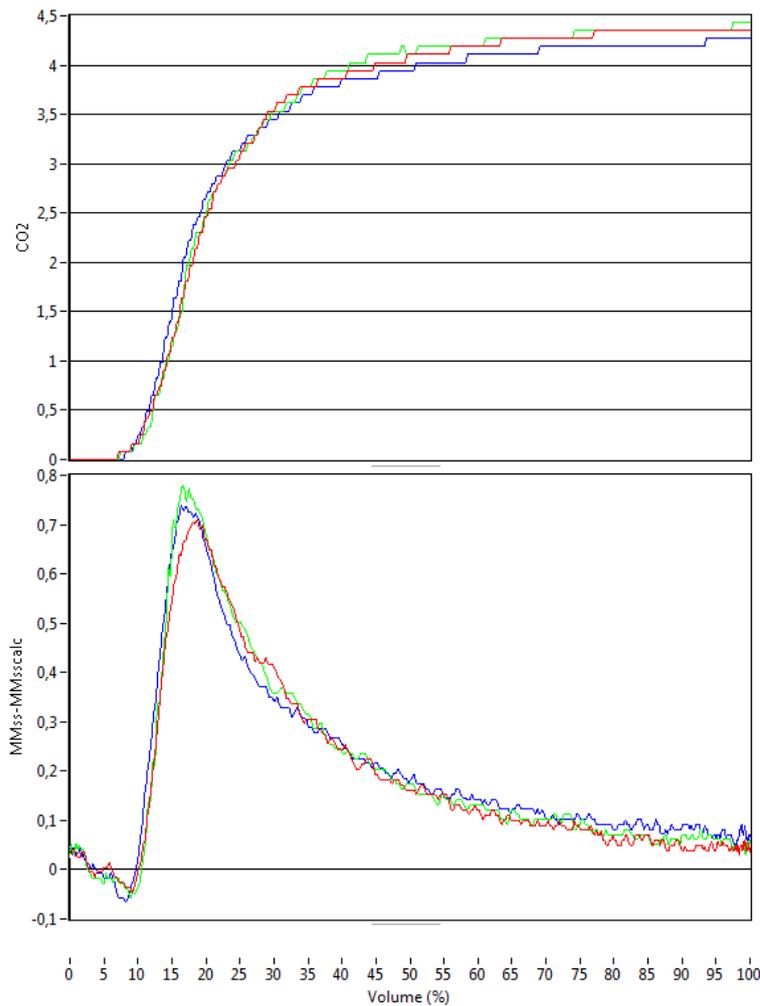


Abbildung 19 : 3 CO₂-Exspirogramme (%) und MMss-MMsscalc (g/mol) einer Test-Sitzung.

Die hauptsächlichen Erfolgskriterien waren die Steigung des Alveolarplateaus (Phase III) zwischen 60 und 90% des abgeatmeten Volumen ($S_{III_{DTG}}$) (Siehe Abbildung 26) welche automatisiert mittels der linearen Regression bestimmt wurde. Die Steigung des Alveolarplateaus im Rahmen des Doppelgas-test ($S_{III_{DTG}}$) spiegelt vermutlich die diffusionsabhängigen Ventilationsinhomogenitäten nahe der azinären Lungenregionen wieder. (55)

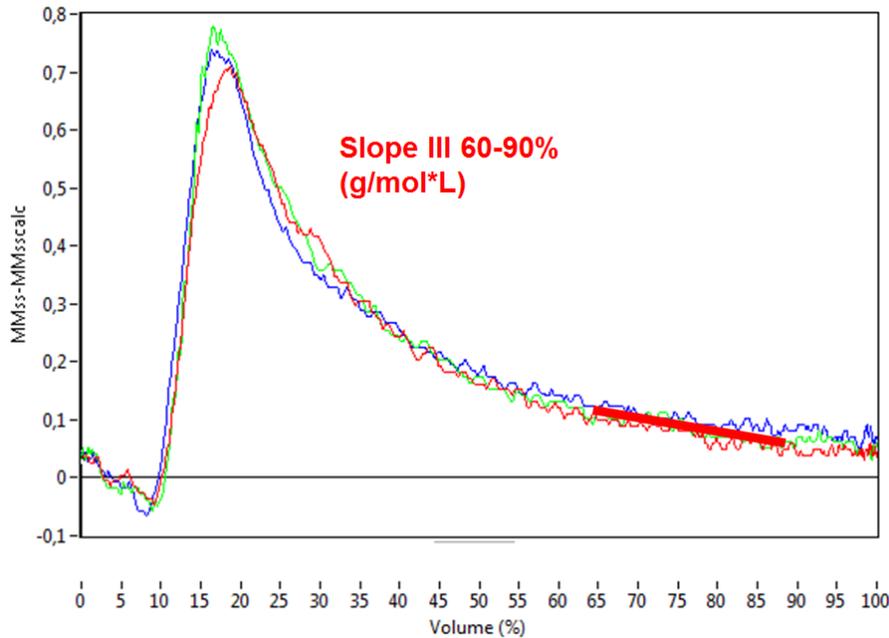


Abbildung 20: Steigung des Alveolarplateaus (Phase III) zwischen 60 und 90% des abgeatmeten Volumen (SIIDTG)

Zusätzliche Parameter waren der absolute Peak des Signals (Peak), das Peak-Volumen (% des abgeatmeten Volumen bei Auftreten des Peak), die Area under the curve (AUC) und die Area under the curve zwischen 60 und 90% des abgeatmeten Volumen (AUC 60-90%).

Um die Form des Doppelgas-Signal zu beschreiben bestimmten wir zudem die komplette Breite zum Zeitpunkt des halben Maximum (FWHM) und die relative linke Breite zum Zeitpunkt des halben Maximum (Verhältnis der linken Breite zum Zeitpunkt des halben Maximum LWHM to FWHM).

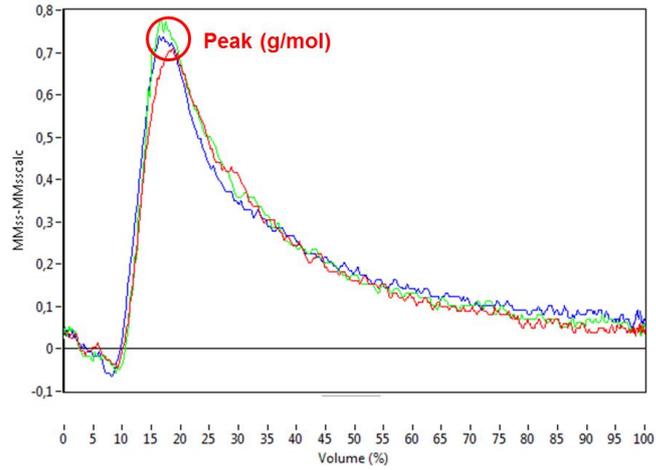


Abbildung 21: absoluter Peak des Signals (Peak)

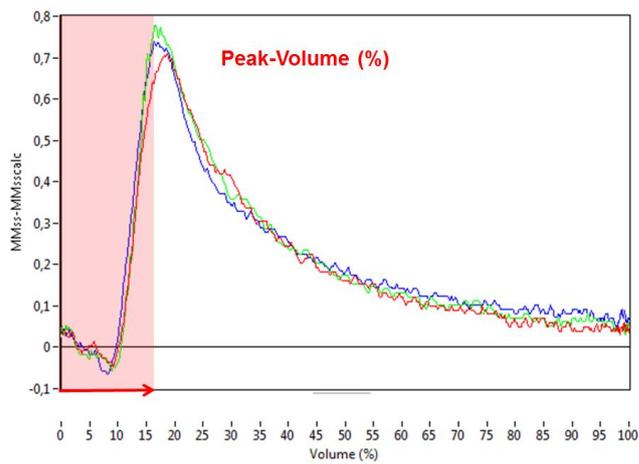


Abbildung 22: Peak-Volumen (% des abgemessenen Volumens bei Auftreten des Peaks)

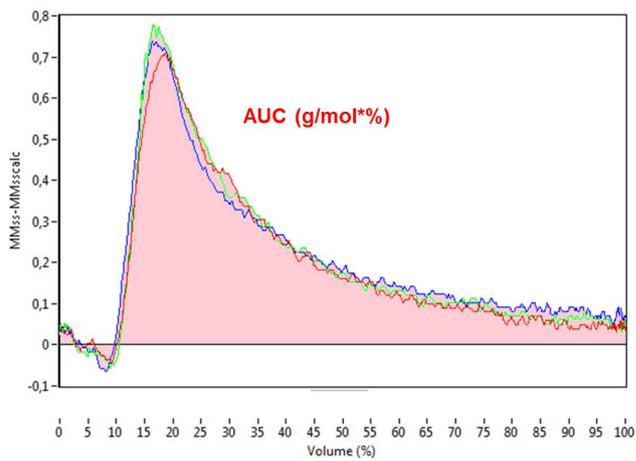


Abbildung 23: Area under the curve (AUC)

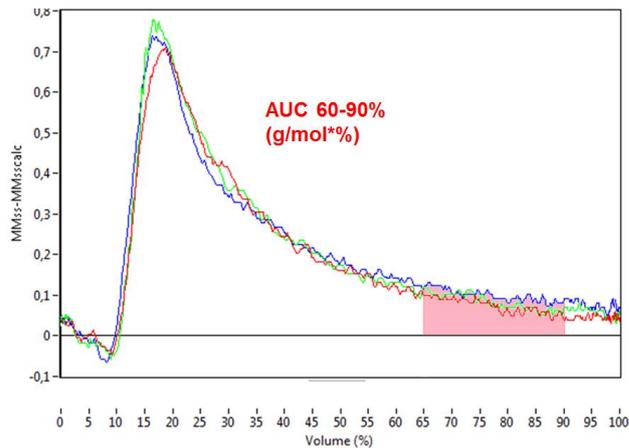


Abbildung 24: Area under the curve zwischen 60 und 90% des abgeatmeten Volumen (AUC 60-90%)

Die Analyse der Daten des einfachen Doppelgasauswaschtest wurden mit einem eigens entwickelten Programm durchgeführt welche auf der Software LabVIEW 2012 (National Instruments, Austin, TX,USA) basiert.

3.4 Datenerfassung und statistische Auswertung

Demographische Daten wie Alter, Gewicht und Größe wurden als Mittelwert, Standardabweichung und Bereich angegeben. Die individuellen Daten für alle parameter der Gasauswaschtests waren Mittelwert und intraindividuelle Standardabweichung (SD) von drei technisch akzeptablen Messungen und einem Testdurchlauf pro Proband.

Die Reproduzierbarkeit innerhalb der Tests wird als intraindividuelle Variationskoeffizient (ICC) ($CV\% = \frac{\text{intra individuelle Standardabweichung}}{\text{Mittelwert}}$) aus drei einzelnen Messungen ausgedrückt. Die Berechnung erfolgte durch ein two way mixed model.

Der intraindividuelle Variationskoeffizient vergleicht Variabilität innerhalb eines Probanden im Vergleich zur totalen Abweichung durch alle Messungen und Probanden. Zudem wurde sie verwendet um die Reproduzierbarkeit von nicht

umgewandelten Daten zu vergleichen welche auf unterschiedliche Skalen gemessen wurden (56)

Für die Abschätzung der kurz- und Langfristigen Reproduzierbarkeit (jeweils baseline, 1 Woche, 1 Monat, 6 Monate) wird der intraindividuelle Variationskoeffizient von dem Durchschnitt und der intraindividuellen Standardabweichung der 2 Testdurchgänge berechnet.

Abweichungen zwischen zwei Messzeitpunkten wurden graphisch durch die Methode von Bland und Altman bewertet.(57) Quantifiziert wurden sie durch den Wiederholbarkeitskoeffizient, welcher eine 95% Spanne von Abweichungen zwischen zwei Messungen darstellt. Der Wiederholbarkeitskoeffizient wird berechnet als das 1,966fache der Standardabweichung zwischen zwei Messungen. (57)

Die Verbindung zwischen Gasauswaschparametern, konventionellen Lungenfunktionsparametern und dem Alter wurden durch die lineare Regression (Pearson correlation) analysiert. Parameter zwischen Tests wurden durch den ungepaarten (2-Proben) t-test verglichen.

Um Effekte des Atemmusters oder Lungenvolumina auf die Parameter des einfachen Doppelgas-Auswaschverfahren zu bewerten wurde ein linear mixed-effects Modell mit einem integrierten zufälligen Achsenabschnitt zur Darstellung mehrerer Beobachtungen verwendet.

Ein P-Wert von 0,05 oder weniger wurde als signifikant angesehen.

Alle statistischen Analysen wurden mit Hilfe von JMP (Version 10.0, SAS institute, Cary, NC, USA) für Windows ausgeführt.

4 Ergebnisse

4.1 Patientenkollektiv

40 gesunde, erwachsene Nichtraucher (mittleres Alter 40 Jahre, Bereich 20-64 Jahre) wurden rekrutiert. 38 der 40 Probanden beendeten die komplette Studie (Visit 1-4). 2 Teilnehmer durchliefen nur 3 Visits.

Die Erfolgsrate für 3 auswertbare Testresultate zu einem Vorstellungstermin war 139/158 (88%) für den Mehrfachen Stickstoffauswaschtest, 150/258 (94,9%) für den einfachen Stickstoffauswaschtest und 153/158 (96,8%) für den einfachen Doppelgastest. Zumindest 2 akzeptable Testdurchläufe (MBW, SBW, DTG-SBW) konnten während einem Vorstellungstermin in 157/158 (99,4%) der Fälle aufgezeichnet werden.

4.2 Übersicht Patientendaten

Die klinischen und demographischen Daten zum Zeitpunkt der ersten Vorstellung sind in folgender Tabelle aufgelistet.

Tabelle 5: klinischen und demographischen Daten beider Gruppen zum Zeitpunkt der ersten Vorstellung

	HA1	HA 2	p-value
Age (years)	32.3 (5.7)	49.1 (6.2)	
m:f	9:11	3:17	
weight (kg)	68.4 (13.7)	69.6 (14.2)	0.79
height (cm)	171 (10)	167 (7)	0.10
BMI (kg/m ²)	23.2 (3.3)	24.9 (3.6)	0.13
FVC (L) / Z-Score	4.61 (1.07) / 0.06 (0.98)	3.96 (0.91) / 0.31 (1.00)	0.42
FEV ₁ (L) / Z-Score	3.81 (0.78) / -0.04 (0.71)	3.11 (0.74) / 0.16 (1.11)	0.49
MMEF (L/s) / Z-Score	3.97 (0.98) / -0.08 (0.64)	2.82 (0.83) / -0.21 (0.74)	0.55
FRC _{MBW} (L)	3.37 (0.76)	3.05 (0.85)	0.21
LCI	6.62 (0.37)	7.25 (0.64)	<0.001
Scond x Vt	0.022 (0.027)	0.034 (0.030)	0.19
Sacin x Vt	0.063 (0.028)	0.056 (0.041)	0.53
dN ₂ (%N ₂ /L)	0.95 (0.39)	1.03 (0.45)	0.59
SIII _{DTG} (g/mol*L)	-0.186 (0.090)	-0.225 (0.123)	0.25
AUC (g*%/mol)	15.56 (4.40)	17.22(6.19)	0.34
AUC 60-90 (g*%/mol)	2.53 (1.26)	2.84 (1.76)	0.53
Peak (g/mol)	0.58 (0.15)	0.59 (0.15)	0.77
Peak-Volume (%)	18.85 (3.17)	19.41(3.05)	0.77
FWHM (%)	18.84 (8.75)	20.31(6.93)	0.56

HA1-Gruppe: Alter ≤ 40 Jahre; HA2-Gruppe: Alter > 40 Jahre. Werte als Durchschnitt (SD) oder n. BMI: body mass index; FVC: forcierte Vitalkapazität; FEV₁: forciertes expiratorisches Volumen in 1 sec.; MMEF: maximum midexpiratory flow; FRC_{MBW}: funktionelle Residualkapazität gemessen mittels mehrfachem Stickstoffauswaschtest; LCI: lung clearance index; Scond: Index der konduktiven Ventilationsinhomogenitäten; Sacin: Index der azinären Ventilationsinhomogenitäten; dN₂: Steigung der Phase II des einfachen Stickstoffauswaschtest; SIII_{DTG}: Steigung der Phase III des DTG-SBW; AUC: area under the curve (DTG-SBW); AUC 60-90: area under the curve zwischen 60% und 90% des exhalieren Volumens (DTG-SBW); Peak: absoluter Peak des DTG-SBW signal; Peak-Volume: % des abgeatmeten Volumens bei Auftreten des Peak (DTG-SBW); FWHM: relative linke Breite zum Zeitpunkt des halben Maximum (Verhältnis der linken Breite zum Zeitpunkt des halben Maximum LWHM to FWHM).

4.3 Ergebnisse der Gasauswaschtests

4.3.1 N2-SBW

Die Ergebnisse der Steigung der Phase III (dN₂), als Hauptparameter des einfachen Stickstoffauswaschtestes sind in Übereinstimmung mit publizierten Normalwerten bei gesunden Probanden. (58,59)

Eine Altersabhängigkeit der Ergebnisse konnte hier nicht nachgewiesen werden.

4.3.2 N2-MBW

Die Hauptparameter des mehrfachen Stickstoffauswaschtest (LCI, Scond, Sacin) waren im Vergleich übereinstimmend mit bereits publizierten Referenzwerten für 7-70jährigen Probanden, welche durch Nutzung der gleichen Gerätschaften und Protokollen erstellt wurden. (60)

Der LCI war der einzige Auswaschparameter, welcher einen statistisch signifikanten Unterschied in Bezug auf das Alter zeigte ($r^2=0,34$, $p<0,001$; $LCI=5.529+0.0345 \times \text{Alter}$). Diese Korrelation wurde bereits in früheren Publikationen beschrieben. (44) (Siehe Abbildung 25)

4.3.3 DTG-SBW

Alle Parameter, welche mittels des DTG-SBW ermittelt wurden zeigten keinen signifikanten Unterschied in Bezug auf das Alter der Probanden bis auf die AUC. Hier konnte eine marginale Assoziation nachgewiesen werden ($r^2=0,11$, $p<0,05$; $AUC=9,39+0,172 \times \text{Alter}$).

Der Mittelwert der Steigung (Slope III) des einfachen Doppelgasauswaschtest (SD) belief sich auf -0.186 (0.090) g/mol*L bei den unter 40jährigen Probanden und auf -0.225 (0.123) g/mol*L bei den älteren Probanden ($p=0,25$).

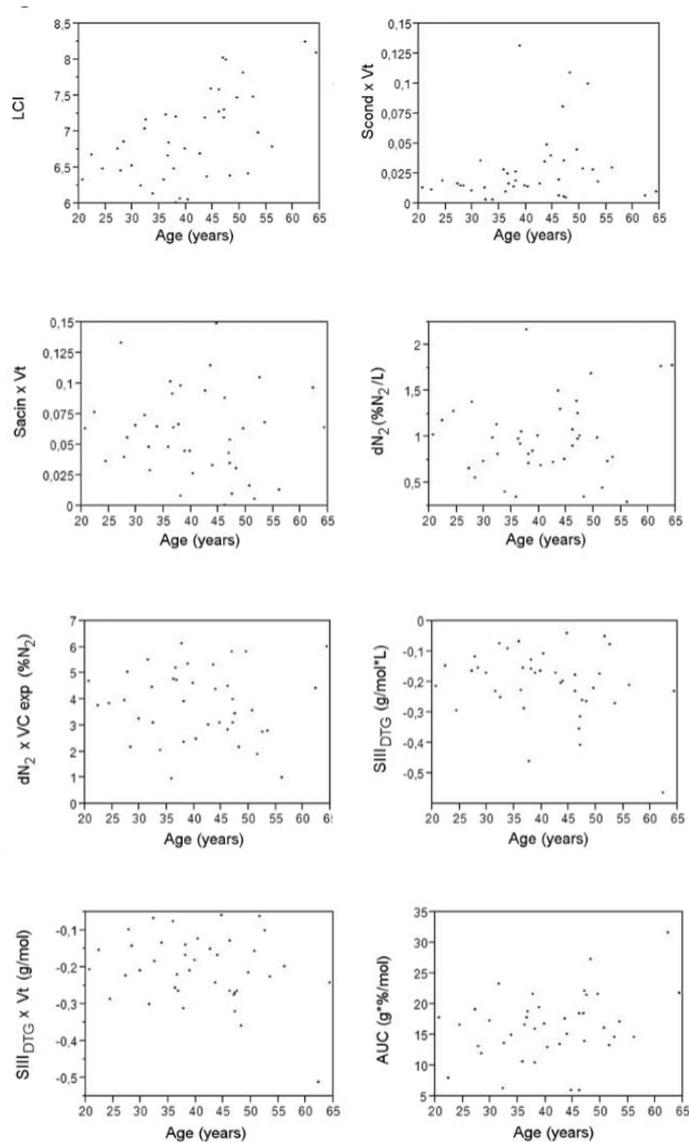


Abbildung 25: Altersabhängigkeit der ermittelten Gaswashoutparameter

Auswaschparameter von N₂-MBW, N₂-VC-SBW und DTG-SBW aufgetragen gegen das Alter der Probanden. Eine signifikanter Zusammenhang wurde für den LCI ($r^2= 0.34$, $p< 0.0001$) und die AUC ($r^2 = 0.11$, $p=0.037$) gefunden. Alle anderen Parameter zeigten keine Assoziation in unserer Gruppe von 40 gesunden Probanden.

4.4 Variabilität und Reproduzierbarkeit

Der mittlere intra-test Variationskoeffizient der Hauptparameter für 3 einzelne Messungen betrug für den LCI 4,4%, die dN2 16,4% und den SlopeIIDTG 22,2%. Scond und Sacin zeigten eine weitaus höhere Variabilität (CV bei 73% und 44%). Für die weiteren DTG-Parameter zeigte der intra-Test Variationskoeffizient akzeptable Werte im Bereich zwischen 7 und 18%. (siehe Tabelle 6)

Tabelle 6: Mittelwert, Standardabweichung and intra-test Variationskoeffizient der gas washout Parameters

	Baseline	1 week	1 month	6 months	Mean CV
LCI	6.94 (0.61)	7.09 (0.64)	7.12 (0.74)	7.05 (0.66)	
LCI CV (%)	3.9 (2.6)	4.6 (2.4)	3.8 (2.3)	5.4 (4.3)	4.4 (3.0)
FRC_{MBW} (L)	3.21 (0.81)	3.03 (0.76)	2.97 (0.73)	2.92 (0.71)	
FRC_{MBW} CV (%)	7.7 (5.9)	8.2 (7.4)	6.1 (4.3)	8.8 (8.1)	7.7 (6.6)
Scond x Vt	0.029 (0.029)	0.027 (0.024)	0.023 (0.019)	0.034 (0.052)	
Scond x Vt CV (%)	77.2 (32.8)	65.2 (36.0)	74.7 (51.7)	74.5 (45.8)	72.8 (42.0)
Sacin x Vt	0.060 (0.034)	0.065 (0.036)	0.058 (0.037)	0.058 (0.041)	
Sacin x Vt CV (%)	43.0 (35.1)	39.2 (31.6)	46.7 (40.7)	58.6 (43.3)	44.4 (34.4)
dN₂ (%N₂/L)	0.99 (0.42)	1.03 (0.43)	1.23 (0.68)	1.10 (0.46)	
dN₂ CV (%)	16.3 (23.1)	15.9 (12.9)	15.0 (13.7)	18.4 (15.0)	16.4 (16.5)
SIII_{DTG} (g/mol *L)	- 0.206(0.10 8)	-0.195 (0.089)	-0.205 (0.109)	-0.216 (0.121)	
SIII_{DTG} CV (%)	27.5 (35.2)	13.0 (39.3)	23.0 (16.4)	25.7 (28.9)	22.2 (31.4)
AUC (g*%/mol)	16.40 (5.38)	16.87 (5.37)	17.18 (5.88)	17.17 (6.27)	
AUC CV (%)	9.9 (7.3)	8.1 (8.2)	8.5 (6.3)	9.3 (9.3)	9.0 (7.8)
Peak (g/mol)	0.59 (0.15)	0.59 (0.17)	0.62 (0.18)	0.58 (0.17)	
Peak CV (%)	12.4 (7.4)	9.0 (6.5)	9.5 (5.6)	10.2 (7.1)	10.3 (6.7)
Peak Volume (%)	19.00 (3.08)	18.99 (3.58)	18.93 (3.67)	18.98 (3.94)	
Peak Volume CV (%)	7.8 (4.7)	6.6 (4.1)	7.0 (4.5)	7.7 (5.4)	7.3 (4.7)
AUC 60-90 (g*%/mol)	2.69 (1.52)	2.74 (1.48)	2.75 (1.65)	2.96 (1.71)	
AUC 60-90 CV (%)	13.4 (41.9)	12.5 (19.4)	18.1 (28.4)	26.4 (92.7)	17.5 (52.5)
FWHM (%)	19.54 (7.82)	20.26 (8.74)	19.32 (9.32)	21.32 (9.06)	
FWHM CV (%)	14.0 (10.2)	12.7 (8.4)	11.9 (8.6)	15.2 (9.3)	13.4 (9.1)

Werte als Mittelwerte (SD). CV: Intra-Test-Variationskoeffizient; LCI: lung clearance index ; FRC_{MBW}: Funktionelle Residualkapazität gemessen mit dem N₂-MBW; Scond: Index der

konduktiven Ventilationsinhomogenität; Sacin: Index der azinären Ventilationsinhomogenität; dN_2 : Steigung der Phase III des N₂-SBW; $S_{III_{DTG}}$: Steigung der Phase III des DTG-SBW; AUC: area under the curve (DTG-SBW); AUC 60-90: area under the curve zwischen 60% und 90% des exhalieren Volumens (DTG-SBW); Peak: absoluter Peak des DTG-SBW signal; Peak-Volume: % des abgeatmeten Volumens bei Auftreten des Peak (DTG-SBW); FWHM: relative linke Breite zum Zeitpunkt des halben Maximum (Verhältnis der linken Breite zum Zeitpunkt des halben Maximum LWHM to FWHM).

Unter Berücksichtigung der kurzfristigen (Vergleich zwischen Baseline und 1 Woche) und der längerfristigen Reproduzierbarkeit (Baseline im Vergleich zu 1 Monat / 6 Monate), zeigte sich bei allen drei Auswaschverfahren ein sehr kleiner mittlerer Unterschied zwischen den gewonnenen Parametern. (siehe Tabelle 7 und Abbildungen 26 und 27).

Tabelle 7: Reproduzierbarkeit der Hauptparameter der Gasauswaschtests

	CV %	Mean difference	CR abs.	CR (% mean)
LCI				
Baseline – 1 week	2.5 (2.1)	-0.15 (0.45)	0.89	12.8
Baseline – 1 month	2.7 (2.4)	-0.18 (0.49)	0.96	13.8
Baseline – 6 months	2.3 (2.0)	-0.10 (0.42)	0.83	11.9
dN₂ (%N₂/L)				
Baseline – 1 month	8.8 (8.0)	-0.04 (0.20)	0.39	39.6
Baseline – 1 month	13.2 (12.0)	-0.24 (0.45)	0.89	89.5
Baseline – 6 months	13.6 (9.9)	-0.12 (0.33)	0.65	65.3
SIII_{DTG} (g/mol*L)				
Baseline – 1 week	13.0 (18.5)	-0.011 (0.050)	0.098	47.6
Baseline – 1 month	12.1 (9.1)	<0.001 (0.059)	0.116	56.0
Baseline – 6 months	16.5 (19.0)	0.009 (0.071)	0.140	67.8
AUC (g*%/mol)				
Baseline – 1 week	9.1 (8.8)	-0.47 (3.38)	6.62	40.3
Baseline – 1 month	8.0 (5,4)	-0.78 (3.02)	5.92	36.1
Baseline – 6 months	8.3 (6.7)	-0.73 (3.21)	6.29	38.3

Inter-Test-Variationskoeffizient (CV) und mittlere Differenz: Werte als Mittelwert (SD). CR: Wiederholbarkeitskoeffizient, absoluter Wert, korrespondierend zu Mittelwert. LCI: lung clearance Index; dN₂: Steigung der Phase III des N₂-SBW; SIII_{DTG}: Steigung der Phase III des DTG-SBW; AUC: area under the curve (DTG-SBW).

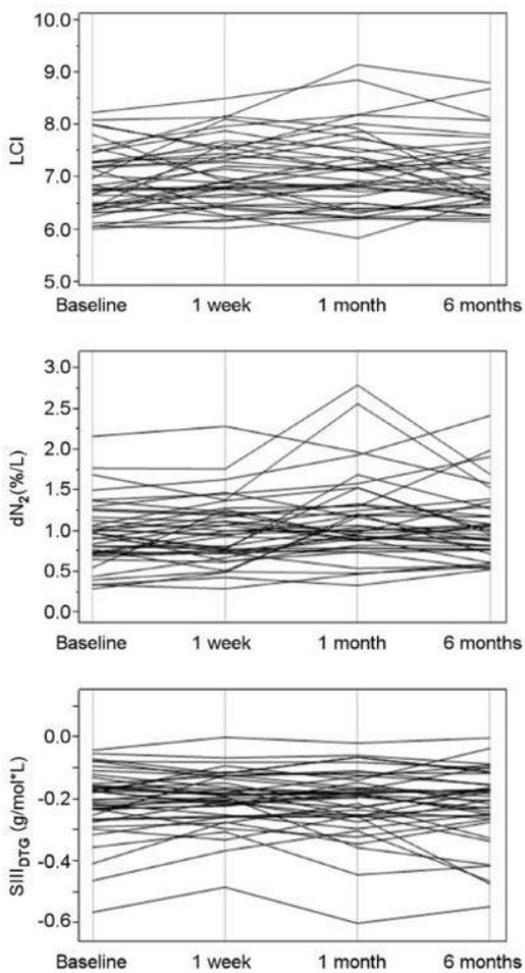


Abbildung 26: Reproduzierbarkeit der Haupt Washoutparameter

Die Mittelwerte von LCI, dN₂ und SIII_{DTG} wurden pro Testzeitpunkt und Proband aufgetragen. Intraindividuelle Veränderungen zwischen den einzelnen Testzeitpunkten (baseline, 1 Woche, 1 Monat, 6 Monate), wurden mithilfe von verbindenden Linien dargestellt. LCI: lung clearance index; dN₂: Steigung der Phase III des N₂-SBW; SIII_{DTG}: Steigung der Phase III des DTG-SBW; AUC: area under the curve (DTG-SBW).

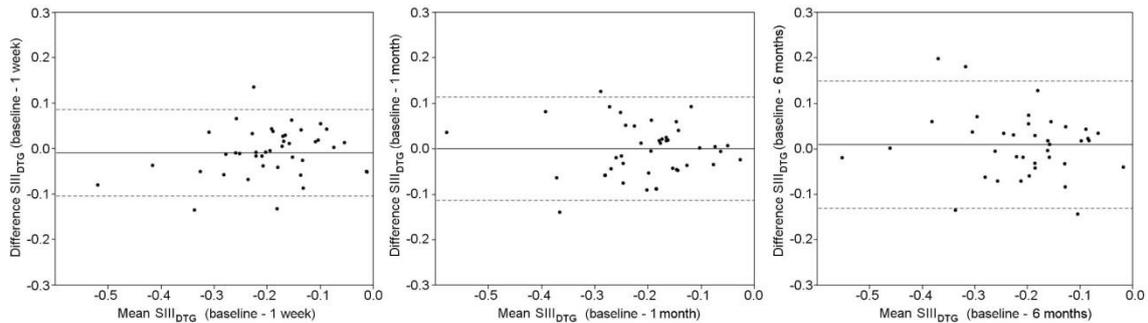


Abbildung 27: Die Reproduzierbarkeit zwischen baseline und den folgenden Messungen für die Steigung der Phase III des DTG-SBW, dargestellt mit Hilfe der Methode nach Bland und Altman.

Hierbei wird die Differenz der $SIII_{DTG}$ (g/mol*L) zweier Messungen gegenüber dem Mittelwert der $SIII_{DTG}$ beider Messungen aufgetragen. Durchgezogene Linie: mittlere Differenz zwischen zwei Testzeitpunkten. Gepunktete Linie: Übereinstimmungsbereich ($\pm 1.96 \times SD$) der mittleren Differenz. Die $1,96 \times SD$ der Differenzen liegt hier bei ca. 0,1 (Wiederholbarkeitskoeffizient) d.h. größere Abweichungen sind mit 95% als relevante Abweichungen zu sehen. Die Grafik zeigt, dass nur nach 6 Monaten ein leichter Anstieg der relevanten Abweichungen zu verzeichnen ist. $SIII_{DTG}$: Steigung der Phase III des DTG-SBW.

Der Inter-Test-Variationskoeffizient war zwischen 2.3-2.7% für den LCI, 8.8-13.6% für dN_2 , 12.1-16.5% für $SIII_{DTG}$ und 8.0-9.1% für die AUC (siehe Tabelle 7).

Der Wiederholbarkeitskoeffizient ($CR = 1,96 \times SD$ des Mittelwertes) beträgt zwischen 0,83 – 0,96 für den LCI. (korrespondierend zu 11.9-13.8% des Mittelwertes des LCI). Für den dN_2 war der Wiederholbarkeitskoeffizient zwischen 0.39 and 0.89 (% N_2/L) (39.6-89.5% des Mittelwertes der dN_2), für den Slope $IIIDTG$ zwischen 0.098 and 0.140 g/mol*L (47.6-67.8% des Mittelwertes der $SIIDTG$), für die AUC 5.9-6.6 g*/mol (36.1-40.3%) des Mittelwertes der AUC. Für die FWHM lagen die Ergebnisse zwischen 9 – 12%. Dies bedeutet, dass ein Unterschied $>0,15$ g/mol*l des Slope III, $> 6g^*/mol$ der AUC oder $> 12\%$ der FWHM als mutmaßlich signifikante Abweichungen gewertet werden können.

Der lung clearance index zeigte in Übereinstimmung mit anderen bereits publizierten Daten eine niedrige Intra-Test-Variabilität bemessen an dem Variationskoeffizienten (Mittelwert 5% bei gesunden Erwachsenen). (60,61)

5 Diskussion

Dies ist die erste Studie in welcher die Variabilität und langzeitige Reproduzierbarkeit von Ventilationsinhomogenitäten der kleinen Atemwege bei gesunden Erwachsenen untersucht wurde.

Verwendet wurde ein kommerziell erhältliches Gerät zur Durchführung verschiedener Gasauswaschtests einschließlich des neuen einfachen Doppelgas-Auswaschverfahren.

Unsere Ergebnisse zeigen, dass der Doppelgas-Auswaschtest einen praktikablen und reproduzierbaren Test bei gesunden Erwachsenen darstellt. Die Durchführung ist einfach mit Erfolgsquoten von 96,8%. Das Test-Signal kann mithilfe eines computergestützten Algorithmus analysiert werden. (62)

Auswaschparameter: Die Parameter der konventionellen Lungenfunktion sowie des einfachen Stickstoffauswaschtestes der gesunden Erwachsenen stimmen mit vorhergehend publizierten Normalwerten überein (56,58,59,63)

Alle Messwerte des mehrfachen Stickstoffauswaschtest korrespondieren gut im Vergleich zu vorausgegangenen Ergebnissen welche mit Hilfe der gleichen Ausstattung sowie des gleichen Protokoll bei Erwachsenen gewonnen wurden. (60)

Der kleine lineare Anstieg der Parameter LCI, Scond und Sacin, welche mit Hilfe des mehrfachen Stickstoffauswaschtest gewonnen wurden, wurde bereits früher beschrieben. Der stärkste Zusammenhang wurde zwischen dem Alter und dem LCI gefunden. (44) Wir fanden einen vergleichbaren Anstieg des LCI von ca. 0,3 / 10 Jahre.

Die geringere Sensitivität unserer Studie bezüglich der Altersabhängigkeit von Scond und Sacin ist möglicherweise auf den geringeren Datenumfang zurückzuführen (n40 versus n120). (44) Einige unserer Studienteilnehmer waren des Weiteren älter als 55 Jahre.

Da nur ein geringer Zusammenhang zwischen der Fläche unter der Kurve des einfachen Doppeltracer-Gasauswaschtest und dem Alter der Probanden gefunden wurde, denken wir, dass diese Assoziation zwischen Alter und den Parametern des einfachen Doppelgasauswaschtest durch einen größeren Studienumfang verifiziert werden könnte.

Der LCI zeigte die geringste Intra- und Intertestvariabilität aller getesteter Parameter ($CV < 5\%$). Dieses Ergebnis deckt sich auch mit den Resultaten vorangegangener Publikationen.(61)

Im Kontrast hierzu zeigen die Phase-III-Parameter des MBW (Scond und Sacin die höchste Intratest-Variabilität. Eine ähnlich hohe Variabilität dieser beiden Parameter wurden im Rahmen einer Studie mittels SF6-MBW bei erwachsenen Patienten mit Cystischer Fibrose und gesunden Kontrollprobanden beschrieben.(64) Dies ist ein Stück weit gegen unsere Erwartungen im Vorfeld, da die Ergebnisse von den Werten der Steigungen während der kompletten MBW-Messung abgeleitet wurden, wohingegen beim DTG-SBW das Ergebnis im Durchschnitt auf den vorangegangenen 3 einzelnen Atemzügen basiert.

Die Variabilität der SBW und DTG-SBW-Parametern bewegt sich in einem Akzeptablen Rahmen mit einem Intratest-Variationskoeffizienten (CV) zwischen 7,3 und 22,2%. Bei gesunden Kindern und Kindern mit Cystischer Fibrose betrug die Variabilität der $SIII_{DTG}$ 18,5% und 23,9% was sich jeweils mit unseren Ergebnissen deckt. (55)

Die Variabilität der Hauptparameter des DTG-SBW scheint ansatzweise durch die Variabilität des unkontrollierten Atemmaneuver, z.B. der Flussrate, des Tidalvolumen oder dem individuellen Lungenvolumen der Probanden erklärt zu sein. Es wäre interessant diesen Aspekt durch ein systematisches Vorgehen näher zu betrachten um Korrekturfaktoren zu erlangen, welche zu einer Reduktion der Variabilität führen.

Der Wiederholbarkeitskoeffizient (CR), welcher das 95% Konfidenzintervall zwischen zwei Testsignalen repräsentiert war zwischen 0,83-0,96 für den LCI. Übersetzt in die klinischen Bedingungen bedeutet dies, dass der Übereinstimmungsbereich (limit of agreement) hier zwischen + und -1 lag. Dies bedeutet, dass bei einer Differenz welche außerhalb des Übereinstimmungsbereiches liegt, also +/-1 zwischen zwei LCI-Messungen (Korrespondierend zu einer Veränderung von >12-14% des mittleren LCI), von einer statistisch signifikanten Abweichung auszugehen ist.

Übereinstimmende Daten zur Reproduzierbarkeit des LCI wurden mithilfe des gleichen Equipement bei Kindern mit Cystischer Fibrose und gesunden Kontrollprobanden berichtet.(65) Korrelierend mit unseren Daten kann eine Differenz der $dN_2 > 0.9\%N_2/L$ (> 90% des Mittel), der $SIIDTG > 0.14 \text{ g/mol}^*L$ (> 68% des Mittel) und in der $AUC > 6.6 \text{ g}^*/\text{mol}$ (> 40% des Mittel) als signifikante Änderung vermutet werden.

Für einen sehr gut reproduzierbaren Standard Lungenfunktionsparameter wie die FEV1 beträgt der Intratest-Variationskoeffizient ca. 2-3% bei gesunden Erwachsenen und eine klinisch bedeutsame Abweichung kann bei einer Differenz von 5% in einem Tag, >12% von Woche zu Woche oder bei >15% von Jahr zu Jahr angenommen werden.(50,66)

Der LCI war in unserer Studie der einzige Parameter der Auswaschverfahren mit vergleichbar niedriger Intra- und Intertest-Variabilität. Wie auch immer, verglichen mit der FEV1, ist der LCI deutlich sensitiver, was den Nachweis von Kurzzeiteffekten von z.B. Interventionsstudien bei früher Cystischer Fibrose.(67) In Zusammenhang mit unseren Daten bleibt es abzuwarten ob die etwas höhere Variabilität des DTG-SBW von praktischer Signifikanz für z.B. Interventionsstudien ist.

Abgesehen von seiner etwas höheren Variabilität, machen vielerlei Vorteile den DTG-SBW interessant für den routinemäßigen Einsatz im klinischen Bereich: validiertes und verfügbares Equipement, keine Notwendigkeit von kontrollierten Atemmaneuvern, kurze Testdauer welche wiederholte Messungen erlaubt und eine schnelle, computergestützte Analyse der Messdaten.

5.1 Limitationen

Daten zur normalen Variabilität sind wichtig um abzuschätzen zu können, ob Änderungen von Lungenfunktionsparametern von klinischer Bedeutung sind. Wir räumen ein, dass wir nur gesunde Probanden gemessen haben. Im weiteren Verlauf sollten Längsschnittdaten erhoben werden um die Variabilität auch bei chronischen Lungenerkrankungen zu charakterisieren.

Ein anderer limitierender Faktor von unserer Studie ist die Anwendung eines potenten Treibhausgases (SF₆). Aufgrund der kurzen Testdauer und dem Fehlen eines Vitalkapazitätsmaneuvers im Rahmen des DTG-SBW, ist der gesamte Verbrauch an SF₆ erheblich niedriger, verglichen mit den konventionellen SBW und MBW-Tests.

6 Zusammenfassung

Diese Dissertation ist Teil einer von Investigator initiierten Studie, welche zu gleichen Teilen durch Zuschüsse der Chiesi GmbH (Hamburg, Germany) und der Robert Bosch Stiftung (Robert-Bosch Stiftung GmbH, Stuttgart, Germany) gefördert wurden.

Im Rahmen dieser Studie stellen wir Daten zur Verfügung, welche helfen Messungen der Ventilationsinhomogenitäten und ihre Änderungen zu verstehen.

Bei Erkrankungen der kleinen Atemwege kommt es in der Lungenperipherie frühzeitig zu Inhomogenitäten der Ventilation (VI). Diese können mittels klassischer Gasauswaschtests wie dem einfachen oder mehrfachen Stickstoffauswaschtest (N₂-SBW, N₂-MBW) erfasst werden.

Seit 2011 steht der einfache Doppeltracergas-Auswaschtest (DTG-SBW) als neue, praktikable Variante zur Verfügung (1). Dabei wird während eines Ruheatemzuges ein Gasgemisch, bestehend aus 26,3% Helium- und 5% SF₆-Anteil eingeatmet und bei der Ausatmung die molare Masse (MM) mittels eines Ultraschallsensors als Summensignal aufgezeichnet.

Im Rahmen der Studie wurden 40 gesunde erwachsene Nichtraucher (20-64 J.) eingeschlossen. Zu vier Zeitpunkten (Einschluss, nach 1 Woche, 1 Monat, 6 Monate) wurden jeweils 3 DTG-SBW im Vergleich zum klassischen N₂-SBW und N₂-MBW durchgeführt. Als Hauptparameter des DTG-SBW wurde die Steigung der Phase III (Slope III DTG) des Differenzsignals (gemessene MM minus kalkulierte MM) zwischen 60 und 90% des exhalierten Volumens definiert. Zu jedem Testzeitpunkt wurde der intraindividuelle Variationskoeffizient von 3 Einzelmessungen bestimmt. Ergebnisse zweier Testzeitpunkte wurden mit der Methode nach Bland und Altman verglichen.

Die Erfolgsrate für 3 auswertbare Testresultate zu einem Vorstellungstermin war 139/158 (88%) für den N₂-MBW, 150/258 (94,9%) für den N₂-SBW und 153/158 (96,8%) für den DTG-SBW.

Der mittlere intra-test Variationskoeffizient der Hauptparameter für 3 einzelne Messungen betrug für den LCI 4,4%, dN₂ 16,4% und Slope III DTG 22,2%.

Der Inter-Test-Variationskoeffizient war zwischen 2.3-2.7% für den LCI, 8.8-13.6% für dN₂, 12.1-16.5% für Slope III DTG.

Der Wiederholbarkeitskoeffizient ($CR = 1,96 \times SD$ des Mittelwertes) beträgt zwischen 0,83 – 0,96 für den LCI. (korrespondierend zu 11.9-13.8% mean LCI). Für den dN₂ war der Wiederholbarkeitskoeffizient zwischen 0.39 und 0.89 (%N₂/L) (39.6-89.5% mean dN₂), für den Slope III DTG zwischen 0.098 and 0.140 g/mol*L (47.6-67.8% mean Slope III DTG).

routinemäßige Anwendung ist.

Der LCI, ein klassische Maßeinheit um Globale Ventilationsinhomogenitäten zu beschreiben und die SIII_{DTG}, ein neues Maß speziell zur Detektion von azinären Ventilationsinhomogenitäten, scheinen am attraktivsten zu sein, da ihre natürliche Variabilität deutlich niedriger ist, als z.B. Scond oder Sacin. Die Variabilität des LCI mit > 12% und die der SIII_{DTG} > 68% über 6 Monate überschreitet die natürliche Variabilität (CR), was mit 95%iger Wahrscheinlichkeit klinische relevant ist. Beide Werte können mit Hilfe eines bereits validierten Geräts bestimmt werden was wichtig für eine zukünftige routinemäßige Anwendung ist.

Dies ist die erste Studie in welcher die Variabilität und langzeitige Reproduzierbarkeit von Ventilationsinhomogenitäten der kleinen Atemwege bei gesunden Erwachsenen untersucht wurde.

Der LCI und die $SIII_{DTG}$ könnten in der Zukunft eine große Rolle im Bereich der Früherkennung bei z.B. bronchiolitis obliterans oder der COPD spielen, aber auch wichtig für die Kontrolle und Verlaufsbeobachtungen von Erkrankungen mit Fehlfunktion der kleinen Atemwege wie z.B. Asthma sein. Auch im Rahmen von Medikamentenstudien zur Verbesserung von Fehlfunktionen der kleinen Atemwege könnten diese Parameter als Erfolgskriterien von Bedeutung sein.

Zusammenfassend kann aus den Ergebnissen geschlossen werden, dass aufgrund seiner einfachen Durchführung bei Ruheatmung in 2-3 min der DTG-SBW als Test zur Diagnostik und zum Therapiemonitoring von Erkrankungen der kleinen Atemwege von Interesse sein kann.

Die Variabilität ist akzeptabel, die kurz- und mittelfristige Reproduzierbarkeit gut.

7 Veröffentlichungen

Teile der vorliegenden Dissertationsschrift wurden bereits in den folgenden Publikationen veröffentlicht:

Husemann, K., Berg, N., Engel, J., Port, J., Joppek, C., Tao, Z., Singer F., Schulz H., Kohlhäufel, M. (2014).

Double tracer gas single-breath washout: reproducibility in healthy subjects and COPD.

European Respiratory Journal 44.5 (2014): 1210-1222.

K Husemann, J Engel, N Hauser, Z Tao, P Johannes, C Joppek, H Schulz, M Kohlhäufel (2013).

Einfacher Doppeltracergas-Auswaschtest – Variabilität und Reproduzierbarkeit im Vergleich zu klassischen Stickstoffauswaschtests.

Pneumologie 2013; 67 - V94

8 Erklärung zum Eigenanteil der Dissertationsschrift

Die Arbeit wurde in der Klinik Schillerhöhe unter Betreuung von Herrn Prof. Dr. Martin Kohlhäufel und im Verlauf durch Herrn Prof. Dr. Hans-Georg Kopp durchgeführt.

Die Konzeption der Studie erfolgte durch Dr. med. Kim Husemann (Oberärztin Klinik Schillerhöhe).

Die Versuche wurden von mir (mit Unterstützung von Jennifer Engel, Kim Husemann und dem Lungenfunktionsteam der Klinik Schillerhöhe) durchgeführt. Jennifer Engel und ich arbeiteten mit demselben Studienprotokoll, die Messmethoden sowie die Analysen waren identisch. Im Unterschied zu mir, wertete sie die Daten der Patienten mit COPD aus und ich die der gesunden Probanden.

Alle mit dem Exhalyzer D durchgeführten Messungen der gesunden Probanden wurden von mir durchgeführt und selbst ausgewertet.

Der Algorithmus für die Auswertung des Doppelgas-Auswaschtest wurde entwickelt von Dr. Port und Dr. Joppek (Institut für biomedizinische Technik, Universität Stuttgart).

Ich versichere, das Manuskript selbständig verfasst zu haben und keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen verwendet zu haben.

Stuttgart, den

Nina Jasmin Berg

9 Danksagung

Ich möchte mich bei Herrn Prof. Dr. med. Martin Kohlhäufel bedanken, der mir die Möglichkeit gegeben hat diese Studie durchzuführen.

Besonders bedanken möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. Hans-Georg Kopp, der die weitere Betreuung als Doktorvater übernommen und mir so die Fertigstellung meiner Dissertation ermöglicht hat.

Ganz besonders möchte ich mich auch bei Fr. Dr. Kim Husamann bedanken, die mich mit herausragendem Engagement betreut und unterstützt hat. Mit ihrer hohen Fachkompetenz und immer freundlichen Art hat sie wesentlich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen und stand mir bei Fragen und Problemen jederzeit zur Seite.

Ein besonderer Dank geht auch an meine Mitdotorandin Fr. Dr. Jennifer Engel und das ganze Team der Lungenfunktion der Klinik Schillerhöhe in Gerlingen für die tolle Zusammenarbeit.

Zuletzt danke ich auch meinen Eltern, meinen Geschwistern und besonders meinem Mann Björn Berg für die ständige Motivation diese Arbeit fertig zu stellen und die liebevolle Unterstützung während der gesamten Zeit.

Literaturverzeichnis

1. Contoli M, Bousquet J, Fabbri LM, Magnussen H, Rabe KF, Siafakas NM, u. a. The small airways and distal lung compartment in asthma and COPD: a time for reappraisal. *Allergy*. Februar 2010;65(2):141–51.
2. Berge M van den, Hacken NHT ten, Cohen J, Douma WR, Postma DS. Small Airway Disease in Asthma and COPD. *CHEST*. 1. Februar 2011;139(2):412–23.
3. Burgel P-R. The role of small airways in obstructive airway diseases. *Eur Respir Rev*. 1. März 2011;20(119):023–33.
4. Husemann K, Haidl P, Kroegel C, Voshaar T, Kohlhäufel M. Lungenfunktionsdiagnostik der kleinen Atemwege. *Pneumologie*. Mai 2012;66(05):283–9.
5. Macklem PT. The Physiology of Small Airways. *Am J Respir Crit Care Med*. 1. Mai 1998;157(5):S181–3.
6. Virchow JC. [Asthma--a small airway disease: concepts and evidence]. *Pneumol Stuttg Ger*. Dezember 2009;63 Suppl 2:S96-101.
7. Husemann K, Haidl P, Kroegel C, Voshaar T, Kohlhäufel M. [Lung function diagnostics for the small airways]. *Pneumol Stuttg Ger*. Mai 2012;66(5):283–9.
8. Woolcock AJ, Vincent NJ, Macklem PT. Frequency dependence of compliance as a test for obstruction in the small airways. *J Clin Invest*. Juni 1969;48(6):1097–106.
9. Macklem PT, Mead J. Resistance of central and peripheral airways measured by a retrograde catheter. *J Appl Physiol*. März 1967;22(3):395–401.
10. Kroegel C, Costabel U. *Klinische Pneumologie: Das Referenzwerk für Klinik und Praxis*. Georg Thieme Verlag; 2013. 724 S.
11. Oczenski W. *Atmen - Atemhilfen: Atemphysiologie und Beatmungstechnik*. 9. Aufl. Stuttgart: Thieme; 2012.
12. Weibel ER. Principles and methods for the morphometric study of the lung and other organs. *Lab Invest J Tech Methods Pathol*. Februar 1963;12:131–55.
13. Robinson PD, Goldman MD, Gustafsson PM. Inert gas washout: theoretical background and clinical utility in respiratory disease. *Respir Int Rev Thorac Dis*. 2009;78(3):339–55.

14. Weibel ER. Morphometry of the human lung: the state of the art after two decades. *Bull Eur Physiopathol Respir.* 1979;15(5):999–1013.
15. Martin C, Frija J, Burgel P-R. Dysfunctional lung anatomy and small airways degeneration in COPD. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis.* 2013;8:7–13.
16. Kraft M. The distal airways: are they important in asthma? *Eur Respir J.* 1. Dezember 1999;14(6):1403–17.
17. Paiva M. Gas transport in the human lung. *J Appl Physiol.* 1. September 1973;35(3):401–10.
18. Crawford AB, Makowska M, Paiva M, Engel LA. Convection- and diffusion-dependent ventilation maldistribution in normal subjects. *J Appl Physiol Bethesda Md* 1985. September 1985;59(3):838–46.
19. Vogelmeier C, Buhl R, Criée CP, Gillissen A, Kardos P, Köhler D, u. a. Leitlinie der Deutschen Atemwegsliga und der Deutschen Gesellschaft für Pneumologie und Beatmungsmedizin zur Diagnostik und Therapie von Patienten mit chronisch obstruktiver Bronchitis und Lungenemphysem (COPD). *Pneumologie.* Mai 2007;61(05):e1–40.
20. Criée C-P, Berdel D, Heise D, Kardos P, Köhler D, Leupold W, u. a. Empfehlungen der Deutschen Atemwegsliga zur Spirometrie. *Pneumologie.* September 2006;60(09):576–84.
21. Lorenz J. Checkliste XXL Pneumologie. Georg Thieme Verlag; 2009. 600 S.
22. Criée C-P, Baur X, Berdel D, Bösch D, Gappa M, Haidl P, u. a. Leitlinie zur Spirometrie. *Pneumologie.* 6. März 2015;69(03):147–64.
23. McFadden ER, Linden DA. A reduction in maximum mid-expiratory flow rate: A spirographic manifestation of small airway disease. *Am J Med.* 1. Juni 1972;52(6):725–37.
24. Hansen JE, Sun X-G, Wasserman K. Discriminating measures and normal values for expiratory obstruction. *Chest.* Februar 2006;129(2):369–77.
25. Sorkness RL, Bleecker ER, Busse WW, Calhoun WJ, Castro M, Chung KF, u. a. Lung function in adults with stable but severe asthma: air trapping and incomplete reversal of obstruction with bronchodilation. *J Appl Physiol Bethesda Md* 1985. Februar 2008;104(2):394–403.
26. Gibson GJ. Pulmonary hyperinflation a clinical overview. *Eur Respir J.* 1. Dezember 1996;9(12):2640–9.
27. Frey U, Merkus PJFM. Paediatric Lung Function: European Respiratory Monograph. European Respiratory Society; 2010. 337 S.

28. Desiraju K, Agrawal A. Impulse oscillometry: The state-of-art for lung function testing. *Lung India*. 7. Januar 2016;33(4):410.
29. Cavalcanti JV, Lopes AJ, Jansen JM, Melo PL. Detection of changes in respiratory mechanics due to increasing degrees of airway obstruction in asthma by the forced oscillation technique. *Respir Med*. Dezember 2006;100(12):2207–19.
30. Darling RC, Cournand A, Richards DW. STUDIES ON THE INTRAPULMONARY MIXTURE OF GASES. III. AN OPEN CIRCUIT METHOD FOR MEASURING RESIDUAL AIR. *J Clin Invest*. Juli 1940;19(4):609–18.
31. Pillow JJ, Ljungberg H, Hülskamp G, Stocks J. Functional residual capacity measurements in healthy infants: ultrasonic flow meter versus a mass spectrometer. *Eur Respir J*. Mai 2004;23(5):763–8.
32. Schibler A, Hall GL, Businger F, Reinmann B, Wildhaber JH, Cernelc M, u. a. Measurement of lung volume and ventilation distribution with an ultrasonic flow meter in healthy infants. *Eur Respir J*. Oktober 2002;20(4):912–8.
33. Singer F, Stern G, Thamrin C, Fuchs O, Riedel T, Gustafsson P, u. a. Tidal volume single breath washout of two tracer gases--a practical and promising lung function test. *PloS One*. 2011;6(3):e17588.
34. Robinson PD, Latzin P, Verbanck S, Hall GL, Horsley A, Gappa M, u. a. Consensus statement for inert gas washout measurement using multiple- and single- breath tests. *Eur Respir J*. März 2013;41(3):507–22.
35. Cosio MG. Looking at the acinus with function tests: can you believe it? *Am J Respir Crit Care Med*. 15. Oktober 2006;174(8):847–8.
36. Verbanck S, Schuermans D, Meysman M, Paiva M, Vincken W. Noninvasive assessment of airway alterations in smokers: the small airways revisited. *Am J Respir Crit Care Med*. 15. August 2004;170(4):414–9.
37. Verbanck S, Schuermans D, Muylem AV, Paiva M, Noppen M, Vincken W. Ventilation distribution during histamine provocation. *J Appl Physiol*. 1. Dezember 1997;83(6):1907–16.
38. Estenne M, Van Muylem A, Knoop C, Antoine M. Detection of obliterative bronchiolitis after lung transplantation by indexes of ventilation distribution. *Am J Respir Crit Care Med*. September 2000;162(3 Pt 1):1047–51.
39. Husemann K, Haidl P, Kroegel C, Voshaar T, Kohlhäufel M. Lungenfunktionsdiagnostik der kleinen Atemwege. *Pneumologie*. Mai 2012;66(05):283–9.

40. Robinson PD, Latzin P, Verbanck S, Hall GL, Horsley A, Gappa M, u. a. Consensus statement for inert gas washout measurement using multiple- and single-breath tests. *Eur Respir J.* 2013;41(3):507–522.
41. Van Muylem A, De Vuyst P, Yernault JC, Paiva M. Inert gas single-breath washout and structural alteration of respiratory bronchioles. *Am Rev Respir Dis.* November 1992;146(5 Pt 1):1167–72.
42. Gustafsson PM. Peripheral airway involvement in CF and asthma compared by inert gas washout. *Pediatr Pulmonol.* Februar 2007;42(2):168–76.
43. Verbanck S, Schuermans D, Noppen M, Van Muylem A, Paiva M, Vincken W. Evidence of acinar airway involvement in asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* Mai 1999;159(5 Pt 1):1545–50.
44. Verbanck S, Thompson BR, Schuermans D, Kalsi H, Biddiscombe M, Stuart-Andrews C, u. a. Ventilation heterogeneity in the acinar and conductive zones of the normal ageing lung. *Thorax.* September 2012;67(9):789–95.
45. Van Muylem A, Paiva M, Estenne M. Involvement of peripheral airways during methacholine-induced bronchoconstriction after lung transplantation. *Am J Respir Crit Care Med.* 1. Oktober 2001;164(7):1200–3.
46. de Vries WR, Luijendijk SC, Zwart A. Helium and sulfur hexafluoride washout in asymmetric lung models. *J Appl Physiol.* November 1981;51(5):1122–30.
47. Paiva M, van Muylem A, Ravez P, Yernault JC. Inspired volume dependence of the slope of the alveolar plateau. *Respir Physiol.* Juni 1984;56(3):309–25.
48. Engel LA, Paiva M, Siegler DI, Fukuchi Y. Dual tracer single breath studies of gas transport in the lung. *Respir Physiol.* Februar 1979;36(2):103–19.
49. Miller MR, Hankinson J, Brusasco V, Burgos F, Casaburi R, Coates A, u. a. Standardisation of spirometry. *Eur Respir J.* August 2005;26(2):319–38.
50. Pellegrino R, Viegi G, Brusasco V, Crapo RO, Burgos F, Casaburi R, u. a. Interpretative strategies for lung function tests. *Eur Respir J Off J Eur Soc Clin Respir Physiol.* November 2005;26(5):948–68.
51. Berger MM, Gust R. Perioperative Evaluation der Lungenfunktion. *Anaesthesist.* 1. März 2005;54(3):273–88.
52. Sterk PJ, Quanjer PH, van Zomeren BC, Wise ME, van der Lende R. The single breath nitrogen test in epidemiological surveys; an appraisal. *Bull Eur Physiopathol Respir.* 1981;17(3):381–97.

53. Bourdin A, Paganin F, Préfaut C, Kieseler D, Godard P, Chanez P. Nitrogen washout slope in poorly controlled asthma. *Allergy*. Januar 2006;61(1):85–9.
54. Fuchs SI, Sturz J, Junge S, Ballmann M, Gappa M. A novel sidestream ultrasonic flow sensor for multiple breath washout in children. *Pediatr Pulmonol*. August 2008;43(8):731–8.
55. Singer F, Stern G, Thamrin C, Abbas C, Casaulta C, Frey U, u. a. A new double-tracer gas single-breath washout to assess early cystic fibrosis lung disease. *Eur Respir J Off J Eur Soc Clin Respir Physiol*. 17. Mai 2012;41(2):339–45.
56. Quanjer PH, Stanojevic S, Cole TJ, Baur X, Hall GL, Culver BH, u. a. Multi-ethnic reference values for spirometry for the 3-95-yr age range: the global lung function 2012 equations. *Eur Respir J*. Dezember 2012;40(6):1324–43.
57. Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet Lond Engl*. 8. Februar 1986;1(8476):307–10.
58. Hedenström H, Malmberg P, Fridriksson HV. Reference values for lung function tests in men: regression equations with smoking variables. *Ups J Med Sci*. 1986;91(3):299–310.
59. Sixt R, Bake B, Oxhøj H. The single-breath N₂-test and spirometry in healthy non-smoking males. *Eur J Respir Dis*. Mai 1984;65(4):296–304.
60. Houltz B, Green K, Lindblad A, Singer F, Robinson P, Nielsen K, u. a. Tidal N₂ washout ventilation inhomogeneity indices in a reference population aged 7-70 years. *Eur Respir J*. 1. September 2012;40(Suppl 56):P3797.
61. Fuchs SI, Eder J, Ellemunter H, Gappa M. Lung clearance index: normal values, repeatability, and reproducibility in healthy children and adolescents. *Pediatr Pulmonol*. Dezember 2009;44(12):1180–5.
62. Singer F, Stern G, Thamrin C, Fuchs O, Riedel T, Gustafsson P, u. a. Tidal volume single breath washout of two tracer gases--a practical and promising lung function test. *PloS One*. 10. März 2011;6(3):e17588.
63. Hedenström H, Malmberg P, Agarwal K. Reference values for lung function tests in females. Regression equations with smoking variables. *Bull Eur Physiopathol Respir*. 1985;21(6):551–7.
64. Horsley AR, Macleod KA, Robson AG, Lenney J, Bell NJ, Cunningham S, u. a. Effects of cystic fibrosis lung disease on gas mixing indices derived from alveolar slope analysis. *Respir Physiol Neurobiol*. 31. August 2008;162(3):197–203.

65. Singer F, Kieninger E, Abbas C, Yammine S, Fuchs O, Proietti E, u. a. Practicability of nitrogen multiple-breath washout measurements in a pediatric cystic fibrosis outpatient setting. *Pediatr Pulmonol.* 8. August 2012;
66. Oldham PD, Cole TJ. Estimation of the FEV. *Thorax.* September 1983;38(9):662–7.
67. Amin R, Subbarao P, Lou W, Jabar A, Balkovec S, Jensen R, u. a. The effect of dornase alfa on ventilation inhomogeneity in patients with cystic fibrosis. *Eur Respir J Off J Eur Soc Clin Respir Physiol.* April 2011;37(4):806–12.

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Schematische Darstellung des Bronchialbaumes inklusive der Generationen	6
Abbildung 2: Probandin bei der Durchführung einer Bodyplethysmographie ..	100
Abbildung 3: Probandin bei der Durchführung einer Impulsoszillometrie	12
Abbildung 4: Single Breath Washout.....	15
Abbildung 5: Einfacher Stickstoffauswaschtest nach Robinson 2009.(4).....	16
Abbildung 6: Beginn eines Multiple-Breath-Washout.....	18
Abbildung 7: Ende eines N ₂ -MBW.....	19
Abbildung 8: Analyse der Steigung von Phase III nach Verbanck (45)	200
Abbildung 9: SF ₆ und He- Expirogramm (49)	222
Abbildung 10: Versuchsaufbau zur Durchführung der Gasauswaschtests	28
Abbildung 11: Ultraschallflowmeter Aufbau für DTG-SBW (33)	29
Abbildung 12: Probandin bei der Durchführung einer Spirometrie	300
Abbildung 13: Volumen/Strömungskalibration mit 3l-Eichpumpe.....	311
Abbildung 14: Aufbau eines Single-Breath-Washout.....	344
Abbildung 15: Probandin bei der Durchführung eines Multiple-Breath-Washout	355
Abbildung 16: Synchronisierte Rohdaten des DTG-SBW ..	388
Abbildung 17: DTG-Test signal.	399
Abbildung 18: Typisches Double-Tracer-Signal eines gesunden Erwachsenen.	400
Abbildung 19 : 3 CO ₂ -Expirogramme (%) und MMss-MMsscalc (g/mol) einer Test-Sitzung.....	421
Abbildung 20: Steigung des Alveolarplateaus (Phase III) zwischen 60 und 90% des abgeatmeten Volumen (SIIDTG)	432
Abbildung 21: absoluter Peak des Signals (Peak).....	443
Abbildung 22: Peak-Volumen (% des abgeatmeten Volumens bei Auftreten des Peaks).....	443
Abbildung 23: Area under the curve (AUC)	443

Abbildung 24: Area under the curve zwischen 60 und 90% des abgeatmeten Volumen (AUC 60-90%).....454

Abbildung 25: Altersabhängigkeit der ermittelten Gaswashoutparameter.....500

Abbildung 26: Reproduzierbarkeit der Haupt Washoutparameter.....555

Abbildung 27: Die Reproduzierbarkeit zwischen baseline und den folgenden Messungen für die Steigung der Phase III des DTG-SBW, dargestellt mit Hilfe der Methode nach Bland und Altman. 56

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Obstruktive Ventilationsstörung 9

Tabelle 2: Ablaufplan der Begutachtung für gesunde Erwachsene 26

Tabelle 3: Definition der gemessenen Lungenfunktionsparameter (10)..... 33

Tabelle 4: Definition der im Rahmen des SBW und MBW gemessenen Werte (10) 36

Tabelle 5: klinischen und demographischen Daten beider Gruppen zum Zeitpunkt der ersten Vorstellung..... 48

Tabelle 6: Mittelwert, Standardabweichung and intra-test Variationskoeffizient der gas washout Parameters522

Tabelle 7: Reproduzierbarkeit der Hauptparameter der Gasauswaschtests ...544