

Medizinische Fakultät
der
Universität Duisburg-Essen

Aus dem Zentrum für Kinderheilkunde
Abteilung für Allgemeine Pädiatrie
mit Schwerpunkt Neuropädiatrie

**Vergleich verschiedener Methoden
zur Messung der Stickstoffmonoxid-Konzentration
in den Atemwegen von Säuglingen**

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung des Doktorgrades der Medizin
durch die Medizinische Fakultät
der Universität Duisburg-Essen

Vorgelegt von
Samira Hischma
aus Schwerin

2005

Dekan: Univ.-Prof. Dr. rer. nat. K.-H. Jöckel
1. Gutachter: Univ.-Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. H. de Groot
2. Gutachter: Prof. Dr. med. F. Ratjen

Tag der mündlichen Prüfung: 31. August 2006

INHALTSVERZEICHNIS

1	EINLEITUNG	8
1.1	STICKSTOFFMONOXID (NO)	8
1.1.1	Funktionen von Stickstoffmonoxid	9
1.1.2	Therapeutische Inhalation von Stickstoffmonoxid	10
1.1.3	L-Arginin-NO-Stoffwechsel	11
1.1.4	Die Isoformen der NO-Synthasen (NOS)	12
1.1.5	Produktion von NO durch NO-Synthasen im Respirationstrakt	13
1.1.6	Nachweis von NO in der Ausatemluft	14
1.1.7	Erkrankungen mit erhöhter NO-Konzentration in den Atemwegen	15
1.1.8	Erkrankungen mit verminderter NO-Konzentration in den Atemwegen	15
1.1.9	Stellenwert der NO-Messung in der Ausatemluft	16
1.2	BISHERIGE METHODEN ZUR MESSUNG VON FE _{NO}	19
1.2.1	Die „single-breath“-Methode als Goldstandard für die NO-Messung der unteren Atemwege	20
1.2.2	Einflussfaktoren der expiratorischen NO-Messung	20
1.2.3	NO-Messung bei jüngeren Kindern, die nicht kooperieren	22
1.2.4	NO-Messung der oberen Atemwege bei jüngeren Kindern und Säuglingen	24
1.3	FRAGESTELLUNG	25
2	STUDIENPOPULATION UND METHODIK	26
2.1	STUDIENPOPULATION	26
2.1.1	Studiendesign	27
2.1.2	Probanden mit nasaler NO-Messung	28
2.1.3	Probanden mit NO-Messung über Mund- und Nasen-Maske bei Einatmung von Raumluft	28
2.1.4	Probanden mit NO-Messung über Mund- und Nasen-Maske bei Einatmung NO-freier Luft	28
2.1.5	Probanden mit NO-Messung über Mund-Maske bei verschlossener Nase	28

2.2	METHODIK	29
2.2.1	Verfahren der NO-Messung (NO-Analyzer)	29
2.2.2	Messung des Atemflusses (Pneumotachograph)	30
2.2.3	Aufzeichnung der Messparameter	30
2.2.4	Erste Methode: Messung der nasalen NO-Konzentration	31
2.2.5	Zweite Methode: Messung von FE _{NO} über Mund und Nase bei Einatmung von Raumluft	32
2.2.6	Dritte Methode: Messung von FE _{NO} über Mund und Nase bei Einatmung von NO-freier Luft	34
2.2.7	Vierte Methode: Messung von FE _{NO} über dem Mund bei verschlossener Nase und Einatmung von Raumluft	35
2.2.8	Statistik	35
3	ERGEBNISSE	36
3.1	GEGENÜBERSTELLUNG DER VERSCHIEDENEN NO-MESSMETHODEN UND EINFLUSSFAKTOREN	36
3.1.1	Einfluss der Raumluft auf das FE _{NO}	36
3.1.2	Vergleich des FE _{NO} bei Einatmung von Raumluft und NO-freier Luft	38
3.1.3	Vergleich nasaler und gemischt-exspiratorischer NO-Konzentrationen	40
3.2	DURCHFÜHRBARKEIT UND ERGEBNISSE DER VIER METHODEN ZUR MESSUNG DER EXSPIRATORISCHEN NO-KONZENTRATION	41
3.2.1	Erste Methode: Messung der nasalen NO-Konzentration	41
3.2.2	Zweite Methode: Messung des FE _{NO} über Mund und Nase bei Einatmung von Raumluft	43
3.2.3	Dritte Methode: Messung von FE _{NO} über Mund und Nase bei Einatmung NO-freier Luft	43
3.2.4	Vierte Methode: Messung von FE _{NO} über dem Mund bei verschlossener Nase und Einatmung von Raumluft	44

4	DISKUSSION	45
4.1	In dieser Studie evaluierte Methoden der expiratorischen NO-Messung im Säuglingsalter und ihre Störfaktoren	45
4.2	Ergebnisse dieser Studie	46
4.3	Messbarkeit der Raumluft-NO-Konzentration und ihr Einfluss auf das FE _{NO} von Säuglingen	46
4.4	Kontamination des FE _{NO} von Säuglingen durch nasales NO	48
4.5	Alternative NO-Messmethoden zur Vermeidung von Störfaktoren	51
4.6	Bedeutung und Einsatzmöglichkeiten der FE _{NO} -Messung im Säuglingsalter	54
4.7	Fazit	56
5	ZUSAMMENFASSUNG	57
6	LITERATUR	58
7	ANHANG	66
7.1	Tabellen	66
7.2	Abkürzungen	75
8	DANKSAGUNG	77
9	LEBENS LAUF	77

ABBILDUNGEN

Abbildung 1:	NO-Synthese durch NOS	11
Abbildung 2:	Beispielhafter Verlauf der NO-Konzentration bei einer nasalen NO-Messung	31
Abbildung 3:	Y-Stück mit drei Schenkeln, für Einatmung, Ausatmung und Säuglingsmaske	32
Abbildung 4:	Beispielhafter Verlauf der expiratorischen NO-Konzentration bei einer NO-Messung über Mund- und Nasen-Maske	33
Abbildung 5:	Zusammenhang zwischen der Raum-NO-Konzentration und FE_{NO} bei Einatmung von Raumluft	36
Abbildung 6:	Korrelation von Raum-NO-Konzentration und FE_{NO} bei Einatmung NO-freier Luft	37
Abbildung 7:	Differenzen des FE_{NO} bei Einatmung von Raumluft gegenüber NO-freier Luft bei steigenden Raum-NO-Werten (Darstellung 1)	38
Abbildung 8:	Differenzen des FE_{NO} bei Einatmung von Raumluft gegenüber NO-freier Luft bei steigenden Raum-NO-Werten (Darstellung 2)	39
Abbildung 9:	Korrelation zwischen nasalem und gemischt-expiratorischem NO	40
Abbildung 10:	Korrelation der NO-Konzentrationen von rechtem und linkem Nasenloch	42
Abbildung 11:	Vergleich der NO-Konzentration beider Nasenostien nach Bland und Altman	42

TABELLEN

Tabelle 1:	Schlüssel-Merkmale der NOS-Isoformen	13
Tabelle 2:	Geschlechtsverteilung und Alter der Probanden	26
Tabelle 3:	Diagnosen der Säuglinge	66
Tabelle 4:	Vergleich des FE_{NO} bei Einatmung von Raumluft versus NO-freier Luft (bei NO-Messung durch eine Maske über Mund und Nase)	70
Tabelle 5:	Vergleich nasaler, gemischt-expiratorischer sowie Raum-NO-Konzentrationen bei Säuglingen	71
Tabelle 6:	Nasale NO-Konzentrationen beider Nasenostien bei Säuglingen	72
Tabelle 7:	FE_{NO} bei Einatmung von Raumluft (mit Hilfe einer Maske über Mund und Nase gemessen)	73
Tabelle 8:	FE_{NO} bei Einatmung NO-freier Luft (mit Hilfe einer Maske über Mund und Nase gemessen)	74

1 EINLEITUNG

1.1 STICKSTOFFMONOXID (NO)

Bis zu Beginn der 80er Jahre war man der Ansicht, dass die Biosynthese von NO auf stickstoff-metabolisierende Bakterien beschränkt sei. Dann mehrten sich Hinweise, dass NO endogen auch in unterschiedlichen Eukaryonten entsteht, von *Drosophila* bis hin zu Huhn und Mensch. Heute kennt man zahlreiche physiologische Prozesse, bei denen NO als biologisches Effektormolekül oder als Botenstoff eine wichtige Rolle spielt. Dabei scheint NO aus chemischer Sicht dafür zunächst ungeeignet zu sein. NO ist ein anorganisches Gas, relativ instabil (es wird leicht zu höheren Stickoxyden oxydiert) und toxisch. Als Bestandteil von Autoabgasen, als Mitverursacher von Smog und saurem Regen spielt es in der Umweltchemie eine unrühmliche Rolle. Heute dagegen konzentriert sich die Forschung unterschiedlicher physiologischer Fächer auf dieses ungewöhnliche Molekül (Feldmann et al., 1993).

Unter atmosphärischen Bedingungen liegt NO als Gas vor. Aufgrund seiner geringen Größe und elektrischen Neutralität kann synthetisiertes NO leicht die produzierende Zelle verlassen, in benachbarte Zellen diffundieren und dort seine Wirkung entfalten. Die biologische Halbwertszeit von NO liegt im Bereich weniger Sekunden. Freies NO ist nicht im Blut nachweisbar, da es schnell metabolisiert wird. Dies geschieht entweder durch Bindung an Hämoglobin oder durch Oxidation zu Nitrat oder Nitrit, welche stabile Zerfallsprodukte von NO darstellen (Guzik et al., 2003). Deshalb muss *in-vivo* oft auf indirekte Nachweismethoden zurückgegriffen werden, wie die Messungen der genannten Zerfallsprodukte oder der Aminosäure Citrullin, einem Koprodukt bei der NO-Synthese aus L-Arginin. Im Gegensatz zu der Situation in den meisten Geweben ist NO in der Gasphase relativ stabil, so auch in den Hohlorganen der menschlichen Luftwege (Lundberg et al., 1996, A).

1.1.1 Funktionen von Stickstoffmonoxid

NO erfüllt im menschlichen Organismus eine Vielzahl von Funktionen. An der glatten Gefäßmuskulatur führt NO zu einer Vasodilatation, womit es an der Blutdruckregulation beteiligt ist (Barnes et al., 1993). Diese Wirkung kommt über die Aktivierung der löslichen Guanylatzyklase zustande, wobei es durch Anstieg von cGMP und Abfall der intrazellulären Kalziumkonzentration zur Relaxation von glatten Muskelzellen kommt (Wang et al., 2003). Auch in der Lunge besitzt NO diese dilatatorische Wirkung auf Muskel- und Gefäßtonus, allerdings nur in relativ hohen Konzentrationen (Sanna et al., 1994).

Im zentralen Nervensystem und in peripheren nicht-adrenergen, nicht-cholinergen (NANC) Neuronen wurde NO als Transmitter identifiziert (Belvisi et al., 1995; Fisher et al., 1999). Als Neurotransmitter nimmt er u.a. Einfluss auf die Regulation des bronchialen Muskeltonus (Barnes et al., 1993; Belvisi et al., 1995). Diese Rolle als Bronchodilatator ist auch als protektiv zu bewerten, da z.B. bei der experimentellen Rhinovirusinfektion von Asthmatikern gezeigt wurde, dass je größer der Anstieg des expiratorischen NOs, desto weniger schwerwiegend die Hyperreagibilität auf Histamin war (de Gouw et al., 1998).

Zudem wird NO ein positiver Effekt auf die körpereigene Abwehr zugeschrieben. Es steigert beispielsweise die Motilität der respiratorischen Zilien. Dies betrifft auch den nasalen Zilienschlag. Lindberg et al. (1997) haben gezeigt, dass die nasale Zilienschlagfrequenz bei NO-Konzentrationen von weniger als 100 ppb wesentlich langsamer ist als bei höheren NO-Konzentrationen. Des Weiteren besitzt NO antivirale und antibakterielle Eigenschaften (Wang et al., 2003). NO hat chemotaktische Wirkung auf Entzündungszellen und hemmt die Adhäsion von neutrophilen Granulozyten an die Gefäßwände (Wang et al., 2003).

NO wird als ein hochdiffusibles Gas vom Endothel nicht nur in die Gefäßwand abgegeben, sondern auch nach luminal, wo es eine hemmende Rolle bei der Aggregation der Blutplättchen auszuüben scheint (Wang et al., 2003). Außerdem besitzt NO antiproliferative Wirkung, u.a. durch Unterdrückung der Expression potenter arterieller Wachstumsfaktoren (Kourembanas et al., 1993). Ferner wird NO insbesondere mit Entzündungsprozessen in Verbindung gebracht (Barnes et al., 1993).

1.1.2 Therapeutische Inhalation von Stickstoffmonoxid

Die Rolle, die NO in der Pathophysiologie des Menschen, insbesondere in den Atemwegen, einnimmt, wird noch deutlicher durch seine Wirkung im Rahmen therapeutischer Stickstoffmonoxid-Inhalationen.

In mehreren Studien konnte gezeigt werden, dass NO die Funktion eines aerogenen Botenstoffes einnimmt. Inhaliertes exogenes NO (Konzentrationen um die 100 ppb) reduziert signifikant den vaskulären pulmonalen Widerstand und verbessert die arterielle Oxygenierung bei Patienten mit schweren pulmonalen Erkrankungen. Frostell et al. (1991) konnten bei Neugeborenen mit pulmonaler Hypertension Hinweise auf die Wirkung von NO als selektiven pulmonalen Vasodilatator geben, ohne dass NO eine systemische Hypotension bewirkt. Auch in weiteren Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass inhaliertes NO bei Neugeborenen mit persistierender pulmonaler Hypertension die systemische Oxygenierung verbessert (Kinsella et al., 1992; Roberts et al., 1992). Dieser Erfolg ist neben seiner relaxierenden Wirkung auf die Gefäßmuskeln auf einen inhibitorischen Effekt zurückzuführen, den NO auf das Wachstum des glatten Gefäßmuskels hat. Denn neben einer Vasokonstriktion geht die persistierende pulmonale Hypertension mit einer strukturellen Veränderungen der Pulmonalarterien, wie initial einer muskulären Hypertrophie, einher (Gianetti et al., 2002).

Ebenso wird NO erfolgreich in der Herzchirurgie eingesetzt, wo es im Rahmen von Herztransplantationen und angeborenen Herzerkrankungen als Vasodilatator der pulmonalen Hypertension in der postoperativen Periode entgegenwirkt (Fioretto et al., 2003). Weitere Einsatzbereiche für die therapeutische NO-Inhalation sind die chronisch obstruktive pulmonale Krankheit (COPD), die pulmonale Fibrose und die Sichelzellanämie (Fioretto et al., 2003). Letztere verursacht hämolytische Anämien und kann zu rezidivierenden Episoden vaskulärer Okklusionen mit schmerzhaften Krisen und Organläsionen führen. Eine Studie bei Patienten mit schweren okklusiven Krisen erwies, dass während einer akuten vaso-okklusiven Krise aus der Inhalation von NO (80 ppm über vier Stunden) gegenüber Placebo ein Vorteil resultiert (Weiner et al., 2003). Beim ARDS (acute respiratory distress syndrome) konnte sogar eine Reduktion der Mortalität nachgewiesen werden (Fioretto et al., 2003).

1.1.3 L-Arginin-NO-Stoffwechsel

NO-Synthasen (NOS) sind Enzyme, welche die Oxidation von der semiessentiellen Aminosäure L-Arginin zu L-Citrullin und NO katalysieren (Guzik et al., 2003; Moncada et al., 1993). Die NO-Synthasen sind bisher in vier Isoformen nachgewiesen (Lundberg et al., 1995). NO selbst wiederum wird in eine Reihe stabiler Endprodukte oxydiert, wie Nitrat (NO_3^-), Nitrit (NO_2^-) und Peroxynitrit (ONOO^-) (Abb. 1). Für die Aufrechterhaltung ihrer Enzymaktivität benötigen die NO-Synthasen Sauerstoff (O_2) und Nikotinsäureamid-Adenindinucleotid-Phosphat (NADP^+) als Kosubstrate und 5,6,7,8-Tetrahydrobiopterin (BH_4), Flavin-Adenin-Dinucleotid (FAD), Flavin-Mono-Nucleotid (FMN), Calmodulin und weitere Verbindungen als Kofaktoren (Asano et al., 1994; Moncada et al., 1993; Nathan et al., 1994).

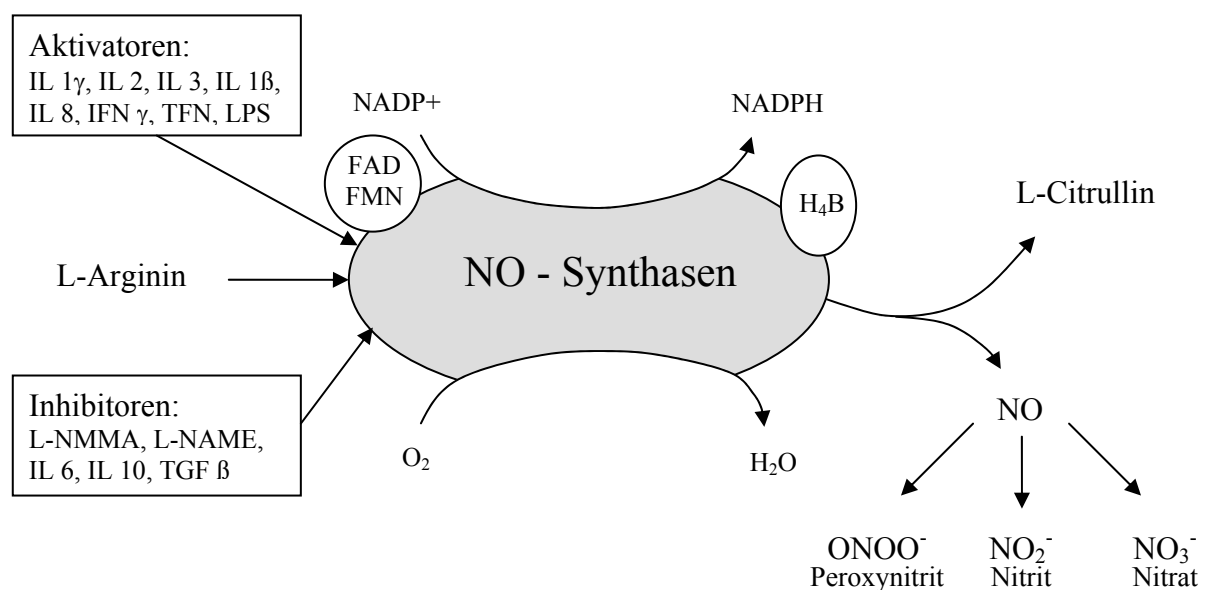


Abbildung 1:

NO-Synthese durch NOS (abgewandelt aus Kharitonov et al., 2002)

Stickstoffmonoxid entsteht durch die Oxidation von L-Arginin zu L-Citrullin. Diese Reaktion wird durch NO-Synthasen katalysiert. Die Argininderivate L-NMMA (N^G -Monomethyl-L-Arginin) und L-NAME (N^G -Nitro-L-Arginin Methylester) fungieren als Inhibitoren der NO-Synthasen so wie auch der TGF β (transforming growth factor beta) und die Interleukine IL 6 und IL 10. Als Aktivatoren der NO-Synthasen gelten die Interleukine IL 1 β , IL 2, IL 3, IL 8 so wie Interferon γ (IFN- γ), Tumornekrosefaktor (TNF alpha und beta) und bakterielle Lipopolysaccharide (LPS).

Die NO-Produktion kann sowohl durch Substratüberschuss als auch durch Inhibitoren und Aktivatoren der NO-Synthasen beeinflusst werden (Abb. 1) (Barnes et al., 1993; Asano et al., 1994). Durch die Gabe des Substrates der NOS, der Aminosäure L-Arginin, wird die NO-Produktion gesteigert. Dies konnte die schwedische Arbeitsgruppe um Gustafsson 1991 erstmalig in Tierversuchen zeigen und wurde zudem durch weitere Studien, sowohl bei gesunden Personen (Kharitonov et al., 1995, A) als auch bei Patienten mit zystischer Fibrose (CF) und primärer ziliarer Dyskinesie (PCD), nachgewiesen (Grasemann et al., 1999, B). Hingegen ist bei den Glukokortikoiden eine hemmende Wirkung auf die NOS belegt (Barnes et al., 1993; Kharitonov et al., 2000).

1.1.4 Die Isoformen der NO-Synthasen (NOS)

Bisher sind drei Gene bekannt, die jeweils für eine NOS-Isoform kodieren. Diese drei Isoformen unterscheiden sich in ihrem Aktivierungsmuster und ihrer Lokalisation in Geweben (Guzik et al., 2003). Bekannt ist die neuronale NO-Synthase, auch nNOS oder NOS 1 genannt, die induzierbare Isoform, auch iNOS oder NOS 2 bezeichnet, und die endotheliale NOS (NOS 3, eNOS). Zudem zeigten Lundberg et al. (1995), dass eine vierte Isoform der NO-Synthasen existiert. Diese ähnelt der induzierbaren Isoform (NOS 2), ist jedoch nicht durch Steroide hemmbar. Diese vierte Isoform der NO-Synthasen wird vorwiegend in den Sinus gefunden, wohingegen im Epithel der Nasenhöhlen nur eine sehr geringe Aktivität nachgewiesen werden konnte (Lundberg et al., 1995). Einen kurzen Überblick gibt Tabelle 1 (abgewandelt von Guzik et al., 2003).

NOS 1 wird u.a. in Neuronen exprimiert und bewirkt wie NOS 3 eine kontinuierliche Synthese relativ geringer Mengen von NO, wobei ihre Aktivität überwiegend durch intrazelluläres Kalzium gesteuert wird. NOS 2 wird als Folge eines Entzündungsreizes in Effektorzellen des Immunsystems (Makrophagen, Granulozyten) exprimiert und vermag NO über Stunden bis Tage in großer Menge zu produzieren. Sie ist unabhängig von der intrazellulären Kalziumkonzentration aktiv. Wichtig ist ihre transkriptionale Regulation, durch die sie stimulierbar ist. Dieser Regulationsmechanismus ist auch für die anderen Isoformen beschrieben (Nathan et al., 1994). Zuerst im Endothelium entdeckt und danach benannt wurde NOS 3, deren Aktivität kalziumabhängig ist, da die Bindung des Kofaktors

Calmodulin an die NOS 3 nicht in Abwesenheit von Kalzium erfolgt (Michel et al., 1997; Lundberg et al., 1995). Über die genannten Expressionsorte hinaus kommen die NOS-Isoformen auch in anderen Zellen des Körpers vor, wie beispielsweise in neutrophilen Granulozyten (NOS 1), vaskulären Muskelzellen (NOS 1 und 2), kardialen Myozyten, Gliazellen (NOS 2), Blutplättchen und im Gehirn (Hippocampus) (Fioretto et al., 2003; Michel et al., 1997; Guzik et al., 2003).

Tabelle 1:
Schlüssel-Merkmale der NOS-Isoformen (abgewandelt aus Guzik et al., 2003)

	NOS 1 (neuronale, nNOS)	NOS 2 (induzierbare, iNOS)	NOS 3 (endotheliale, eNOS)
Ursprünglich entdeckt in	Neuronen	Makrophagen	Endothelzellen
Gen-Codierung und -Lokalisation	12q24.2-31	17q11.2-12	7q35-36
Hauptregulationsmechanismen	überwiegend konstitutive Expression, Ca ²⁺ -abhängig	transkriptionale Regulation, stimulierbar, Ca ²⁺ -unabhängig ¹	überwiegend konstitutive Expression, Ca ²⁺ -abhängig
Aktivierungsmuster	kontinuierliche Synthese relativ geringer Mengen von NO	Produktion großer (100-1000facher) Mengen NO erst als Folge eines Entzündungsreizes	kontinuierliche Synthese relativ geringer Mengen von NO

1.1.5 Produktion von NO durch NO-Synthasen im Respirationstrakt

Alle Isoformen wurden zudem innerhalb der Atemwege des Menschen identifiziert (Fioretto et al., 2003; Lundberg et al., 1995; Asano et al., 1994). Dort werden sie von den unterschiedlichsten Zellen, wie alveolaren und bronchialen Epithelzellen, vaskulären Endothelzellen, Makrophagen, neutrophilen Granulozyten und glatten Muskelzellen exprimiert (Asano et al., 1994; Guo et al., 1995; Michel et al., 1997). NOS 1 wurde beispielsweise in bronchialen Epithelzellen entdeckt (Asano et al., 1994). Die Expression der NOS 2 findet u.a. in der Mukosa der Nasennebenhöhlen statt (Furukawa et al., 1996).

¹ Die NOS 2 bindet den Kofaktor Calmodulin auch bei sehr geringen intrazellulären Ca²⁺-Konzentrationen.

Watkins et al. (1997) konnten mit verschiedenen molekularbiologischen Methoden zeigen, dass NOS 2 im menschlichen Bronchialepithel nach Zytokinstimulation exprimiert werden kann. Guo et al. (1995) berichten darüber hinaus über Expression von NOS 2 in bronchialer Mukosa gesunder Probanden. Auch NOS 3 konnte in kultiviertem menschlichem Bronchialepithel nachgewiesen werden (Shaul et al., 1994). Als weitere wichtige Quelle der pulmonalen NO-Produktion durch NOS 2 werden Alveolarmakrophagen und neutrophile bzw. eosinophile Granulozyten angesehen (Moncada et al., 1993).

1.1.6 Nachweis von NO in der Ausatemluft

Gustafsson et al. konnten in einer 1991 veröffentlichten Studie erstmals zeigen, dass NO in der Ausatemluft von Menschen gemessen werden kann (Gustafsson et al., 1991). Zugunsten einer einheitlichen Nomenklatur wird das expiratorische NO als FE_{NO} bezeichnet (fraktionierte expiratorische NO-Konzentration) (ATS, 1999). FE_{NO} ist zwar ein endogenes Produkt der zur NO-Synthese befähigten Zellen, jedoch ist bisher unklar, zu welchem Anteil die aufgeführten Enzyme und Zellsysteme als Quelle für diese messbare NO-Synthese anzusehen sind. Theoretisch ist auch die Beteiligung der Bakterienflora an dieser Synthese möglich (Moncada et al., 1993).

Auch wenn vieles noch nicht geklärt ist, so weiß man doch, dass ein beträchtlicher Anteil des in der Ausatemluft nachgewiesenen NO aus den oberen Atemwegen stammt. Lundberg et al. (1994, B) konnten die nasale Lokalisation von NO der Ausatemluft nachweisen, insbesondere in den Nasennebenhöhlen. Im Gegensatz zu den hohen Konzentrationen der oberen Atemwege ist der NO-Anteil in den unteren Atemwegen relativ gering. Als eine Erklärung hierfür wird die Bindung an das Hämoglobin im Blut angegeben. Dies soll dazu führen, dass die Luft in den Alveolen, im Gleichgewicht mit dem kapillaren Blut, die niedrigsten NO-Konzentrationen enthält (Gow et al., 1994).

1.1.7 Erkrankungen mit erhöhter NO-Konzentration in den Atemwegen

Nicht nur die bereits genannten Inhibitoren oder Aktivatoren, sondern auch bestimmte Erkrankungen beeinflussen die zu messende NO-Konzentration in den Atemwegen. Bei Patienten mit Asthma bronchiale zeigen sich erhöhte Werte sowohl in den oberen als auch in den unteren Atemwegen (Dötsch et al., 1996; Kharitonov et al., 1995, B; Lundberg et al., 1996, A). Das $F_{E_{NO}}$ von Asthmatikern korreliert mit dem Schweregrad der Erkrankung (Kharitonov et al., 1994). Kharitonov et al. (1996, A) bemerkten, dass das erhöhte $F_{E_{NO}}$ bei Asthma bronchiale vorrangig aus den unteren Atemwegen stammt. Das unter diesen Bedingungen vermehrt freigesetzte NO wird mehrheitlich einer erhöhten Expression der NOS 2 zugeschrieben (Lane et al., 2004). Jedoch gibt es ebenso Hinweise für einen Einfluss der NOS 1 (Wechsler et al., 2000). Insbesondere wurden Varianten des NOS 1-Gens als möglicher Ursprung eines genetischen Risikos, an Asthma bronchiale zu erkranken, identifiziert (Grasemann et al., 1999, A; Grasemann et al., 2000).

Jedoch ist Asthma nicht die einzige entzündliche Atemwegserkrankung, bei der erhöhte $F_{E_{NO}}$ -Werte gemessen werden konnten. Darüber hinaus werden bei Kindern mit Pneumonien und ferner bei Infekten der oberen Atemwege erhöhte Mengen der stabilen Abbauprodukte von NO, Nitrat und Nitrit, in den Atemwegen nachgewiesen (Grasemann et al., 1997, A; Kharitonov et al., 1995, B). Auch an anderen atopischen Erkrankungen leidende Kinder haben höhere NO-Konzentrationen in den Atemwegen (Franklin et al., 1999). Zu weiteren Erkrankungen, die mit erhöhtem $F_{E_{NO}}$ verbunden sind, zählen Systemischer Lupus erythematodes, Leberzirrhose und Tuberkulose (Rolla et al., 1997; Sodermann et al., 1997; Kharitonov et al., 2000).

1.1.8 Erkrankungen mit verminderter NO-Konzentration in den Atemwegen

Obwohl bei der cystischen Fibrose ebenfalls eine ausgeprägte intrabronchiale Entzündung vorliegt, finden sich bei diesen Patienten erniedrigte NO-Konzentrationen in den Atemwegen (Grasemann et al., 1997, B; Dötsch et al., 1996). In einer Studie von Elphick et al. (2001) wurden erniedrigte $F_{E_{NO}}$ -Werte bereits bei Säuglingen mit CF (durchschnittliches Alter 48,6 Tage) festgestellt. Unklar ist noch, welcher Mechanismus für das niedrigere $F_{E_{NO}}$ dieser Patienten verantwortlich ist. Es liegen zwar mehrere Studien vor,

die eine Reduktion der NOS 2 bei Patienten mit cystischer Fibrose zeigen (Kelley et al., 1998; Meng et al., 1998), es gibt jedoch Hinweise darauf, dass beschleunigte Oxidation eher als reduzierte Produktion von NO ein wahrscheinlicher Mechanismus für die relativ niedrigen $F_{E_{NO}}$ -Werte bei CF-Patienten ist (Linnane et al., 1998). In einer aktuellen Studie von Grasemann et al. (2005) wird diskutiert, dass der Grund in der gesteigerten Arginase-Aktivität in den Atemwegen von CF-Patienten liegen könnte. Das Enzym Arginase spaltet L-Arginin unter Bildung von Harnstoff und Ornithin. Da Arginase und NOS um das gemeinsame Substrat L-Arginin konkurrieren, könnte eine Verschiebung des Gleichgewichtes in Richtung der Arginaseaktivität die Bioverfügbarkeit des L-Arginins für NOS reduzieren.

Bei Patienten mit einer primären ziliären Dyskinesie (PCD) wurden erstmalig von der Arbeitsgruppe Lundberg et al. (1994, B) erniedrigte NO-Konzentrationen in den oberen Atemwegen gemessen. Grasemann et al. konnten 1999 erstmals zeigen, dass die NO-Konzentration bei Patienten mit PCD gegenüber gesunden Menschen auch in den unteren Atemwegen signifikant verringert ist (Grasemann et al., 1999, B).

Über die genannten Erkrankungen hinaus, kann vermindertes $F_{E_{NO}}$ auch bei pulmonaler Sklerose, Herzvitien, arterieller Hypertension, HIV-Infektion, Duchenne Muskeldystrophie und bei Rauchern gemessen werden (Kharitonov et al., 2000; Loveless et al., 1997; Straub et al., 2002; Lundberg et al., 1994, B).

1.1.9 Stellenwert der NO-Messung in der Ausatemluft

Screening auf entzündliche Atemwegserkrankungen

Die genannten Untersuchungen eröffnen die Perspektive, dass ausgeatmetes NO zur nicht-invasiven Charakterisierung von Atemwegserkrankungen herangezogen werden kann. Mit Hilfe dieses Parameters könnte eine genauere Überwachung entzündlicher Vorgänge erfolgen, als dies mit Hilfe indirekter Parameter, wie einer Lungenfunktion, möglich ist. Aktuelle Studien zeigen, dass die $F_{E_{NO}}$ -Messung zur Diagnosesicherung bei Patienten mit Verdacht auf Asthma erfolgreich eingesetzt werden kann. Dupont et al. (2003) untersuchten 240 Patienten mit Symptomen, die auf ein Asthma bronchiale hinweisen,

umfangreich mit herkömmlichen Methoden. Zusätzlich wurde NO in der Ausatemluft gemessen. Bei 160 der 240 Patienten konnte per herkömmliche Diagnostik Asthma bronchiale festgestellt werden. In dieser Gruppe der Asthmatiker waren die NO-Werte signifikant höher als in der anderen Gruppe von Patienten mit ähnlichen Symptomen ohne Asthma bronchiale (im Mittel 25 ppb gegenüber 11 ppb). Darüber hinaus konnten für das $F_{E_{NO}}$ sogar Grenzwerte aufgestellt werden, bei der die Diagnose Asthma bronchiale bezüglich Spezifität und Sensitivität am wahrscheinlichsten ist. Ein $F_{E_{NO}}$ -Wert von über 16 ppb war mit einer Spezifität von 90% für die Diagnose Asthma bronchiale assoziiert (Sensitivität 69,4%). Eher als ein solcher absoluter Grenzwerte eignet sich eine Darstellung von Malmerg et al. (2003). In jener Studie wurde die Diagnose Asthma bronchiale mit einer Sensitivität von 82% und einer Spezifität von 92% bei Vorschulkindern als wahrscheinlich angesehen, wenn die $F_{E_{NO}}$ -Werte oberhalb der 1,5-fachen Standardabweichung der gesunden Kontrollgruppe lagen. Hohe $F_{E_{NO}}$ -Werte werden allerdings, wie bereits beschrieben, auch bei anderen Erkrankungen festgestellt, was die Spezifität der NO-Messung als Asthma-Screening mindert. Deshalb sollte die Messung des $F_{E_{NO}}$ nicht als alleiniges, sondern als zusätzliches Mittel zur Diagnosefindung herangezogen werden.

$F_{E_{NO}}$ als differentialdiagnostischer Parameter

Verschiedene Erkrankungen gehen mit unterschiedlichen Veränderungen des $F_{E_{NO}}$ einher, so dass diese Untersuchung möglicherweise auch als zusätzliches differentialdiagnostisches Mittel herangezogen werden kann. Erniedrigte $F_{E_{NO}}$ -Werte könnten bei entsprechenden Symptomen beispielsweise auf eine primäre ziliare Dyskinesie oder cystischen Fibrose hinweisen, wohingegen erhöhte Werte für ein Asthma bronchiale sprechen könnten. Grasemann et al. (1999, B) haben festgestellt, dass die in der Nase gemessenen NO-Konzentrationen der Patienten mit cystischer Fibrose im Durchschnitt halb so hoch sind wie die der gesunden Kontrollprobanden. Die nasalen NO-Konzentrationen der Patienten mit primärer ziliarer Dyskinesie sind darüber hinaus sogar um das zehnfache verringert (Grasemann et al., 1999, B).

NO als Verlaufsparemeter

Es ist denkbar, die $F_{E_{NO}}$ -Messung über diese Screening-Funktion hinaus auch als Verlaufsparemeter einzusetzen. Baraldi et al. (1999, A) konnten in einer Langzeitstudie an Kindern im Alter von sechs bis 16 Jahren mit allergischem Asthma bronchiale zeigen, dass ein

signifikanter Anstieg des $F_{E_{NO}}$ in der Pollensaison (Mai) stattfindet. Möglicherweise kann dieses Verfahren das Ausmaß der Aktivität des Asthmas bronchiale bestimmen. Darüber hinaus könnte man anhand des $F_{E_{NO}}$ den Erfolg einer medikamentösen Therapie feststellen (Kharitonov et al., 2000). Es konnte im Rahmen der obstruktiven Bronchitis belegt werden, dass sowohl inhalativ als auch oral applizierte Kortikosteroide $F_{E_{NO}}$ senken. Zudem wurde auch für den Leukotrienrezeptor-Antagonisten Montelukast ein hemmender Effekt auf das $F_{E_{NO}}$ nachgewiesen (Bisgaard et al., 1999). Eine Studie von Covar et al. (2003) zeigt, dass eine Therapie von asthmatischen Kindern mit Budesonid effektiver als eine Therapie mit Nedocromil oder Placebo die expiratorische NO-Konzentration senkt (21,5 versus 62,5 ppb). Weitere Studien offenbaren sogar die Dosisabhängigkeit der NO-Werte. So stieg das $F_{E_{NO}}$ an, wenn die Dosis der Kortikosteroide reduziert wurde (Buchvald et al., 2001; Kharitonov et al., 1996, B). Aktuelle Studien zeigen, dass das Monitoring des $F_{E_{NO}}$ die Therapiesteuerung des Asthma sinnvoll ergänzt (Smith et al., 2005).

Bedeutung der NO-Messung im Säuglingsalter –

Frühmarker von Entzündungsprozessen vor dem Auftreten klinischer Symptome

Über die Rolle der $F_{E_{NO}}$ -Messung bei Säuglingen ist wenig bekannt. Bei Säuglingen mit rekurrierender oder chronisch persistierender Bronchitis, aus der sich später ein Asthma entwickeln könnte, gibt es kaum klinische Marker, mit deren Hilfe man eine Aussage über das Bestehen einer Inflammation treffen kann. Möglicherweise ist es mit der nicht-invasiven $F_{E_{NO}}$ -Messung möglich, die Diagnose eines Asthmas bronchiale frühzeitig zu stellen oder gegen eine obstruktive Bronchitis abzugrenzen.

Abschließend ist festzuhalten, dass die Vorteile der NO-Messung in den Atemwegen vielfältig sind. Sie ist nicht-invasiv, im Gegensatz zur Bronchoskopie oder Biopsie, ihr Ergebnis ist sofort verfügbar als auch wiederholbar und ebenso sinnvoll während einer obstruktiven Episode einzusetzen, während der andere Methoden, wie beispielsweise die Spirometrie, nicht durchführbar sind. Aufgrund der zahlreichen klinisch sinnvollen Einsatzmöglichkeiten ist das Interesse an einer standardisierten Messung von $F_{E_{NO}}$ groß.

1.2 BISHERIGE METHODEN ZUR MESSUNG VON $F_{E_{NO}}$

Die European Respiratory Society (ERS) und die American Thoracic Society (ATS) haben internationale Standards zur expiratorischen NO-Messung veröffentlicht, welche allerdings nicht auf spontan atmende Säuglinge anwendbar sind, die in unserer Studie untersucht wurden (Kharitonov et al., 1997; ATS, 1999; ERS/ATS Statement, 2002; ATS/ERS, 2005). In der Literatur existieren nur sehr wenige Studien über $F_{E_{NO}}$ -Messungen bei Kinder, die nicht in der Lage zur Kooperation sind (Baraldi et al., 1999, B; Wildhaber et al., 1999), noch weniger über solche bei spontan atmenden Säuglingen (Colnaghi et al., 2003; Ratjen et al., 2000).

Grundsätzlich wird zwischen online- und offline-Messungen unterschieden. Bei den online-Messungen wird der NO-Wert der Expirationsluft unmittelbar aufgezeichnet (ATS, 1999; Buchvald et al., 2001; Baraldi et al., 2000). Dies ermöglicht eine genaue Erfassung der unterschiedlichen Expirationsflüssen und expiratorischen Drücken. Suboptimale Atemmanöver können erkannt und von der Auswertung ausgenommen werden.

Bei der offline-Messung hingegen wird die Ausatemluft zunächst in einem Behältnis gesammelt, um dann zeitverzögert ausgewertet zu werden (Elphick et al., 2001; Figueras-Aloy et al., 2003; Baraldi et al., 1999, B). Vorteil dieses Verfahrens ist, dass die NO-Sammlung nicht in der unmittelbaren Umgebung des NO-Analyzers stattfinden muss. Sie kann auch zu Hause oder in der Schule erfolgen und die Messung ist darüber hinaus unabhängig von der Messgeschwindigkeit des NO-Analyzers (ATS, 1999). Nachteilig ist wiederum, dass es bei der offline-Messung nicht möglich ist, NO-Konzentrationen auszuschließen, die durch fehlerhafte Technik gemessen werden.

Im Folgenden wird, jeweils für unterschiedliche Altersklassen, zunächst auf NO-Messungen aus den unteren Atemwegen, anschließend auf NO-Messungen aus den oberen Atemwegen eingegangen.

1.2.1 Die „single-breath“-Methode als Goldstandard für die NO-Messung der unteren Atemwege

Bei der „single-breath“- Methode, dem Goldstandard für die NO-Messung aus den unteren Atemwegen, wird der Patient aufgefordert, bis zur totalen Lungenvolumenkapazität (TLC) einzuatmen, um dann unverzüglich, ohne eine Pause des Atemanhaltens, langsam mit konstanter expiratorischer Flussrate über ein Mundstück auszuatmen (Kharitonov et al., 1997). Die online aufgezeichneten NO-Konzentrationen zeigen zunächst einen Peak, der am wahrscheinlichsten dem Totraumvolumen und dem mit nasalem NO verunreinigtem Anteil der Ausatemluft entspricht. Diesem Peak folgt ein endexpiratorisches Plateau, das zur Auswertung herangezogen werden soll. Diese Methode wird für Erwachsene und Kinder ab dem sechsten Lebensjahr empfohlen (ERS/ATS, 2002 und 2005).

1.2.2 Einflussfaktoren der expiratorischen NO-Messung

Variabilität der Raumluft-NO-Konzentration

Von der American Thoracic Society (ATS) (1999) wurde eine Einatmung NO-freier Luft empfohlen, um mögliche Einflüsse der Raumluft auszuschließen. Die NO-Konzentrationen der Umgebungsluft können sehr unterschiedliche Werte erreichen. Baraldi et al. (1998) wiesen auf Schwankungen der NO-Konzentrationen in Nordostitalien hin, die von zwei bis drei ppb im Sommer bis hin zu 300 ppb im Winter variierten. Mehrere Studien wiesen auf, dass F_{ENO} bei Einatmung hoher Raumluft-NO-Konzentrationen wesentlich höher ist als bei Einatmung von NO-freier Luft, wobei die Korrelation dieser Werte unterschiedlich bewertet wurde (Silkoff et al., 1997; Therminarias et al., 1998; Baraldi et al., 1998). Franklin et al. (2004) stellten bereits signifikante Einflüsse bei Raumluft-Konzentrationen von 5 ppb fest, wohingegen in anderen Studie höhere F_{ENO} -Werte erst bei Raumluft-NO-Konzentrationen von mehr als 20 bis 40 ppb gemessen wurden (Silkoff et al., 1997; Therminarias et al., 1998). Im Gegensatz zu diesen Ergebnissen gibt es Studien, die keinen Zusammenhang zwischen der Einatmung von Raumluft-NO und F_{ENO} feststellen konnten (Robbins et al., 1996; Piacentini et al., 1998). Robbins et al. (1996) zeigten, dass selbst die Inhalation des Kalibrationsgases (113-800 ppb) den Peak des ausgeatmeten NO nicht beeinflusste. Eine mögliche Erklärung hierfür wäre ggf. die schnelle Aufnahme des inhalierten NOs durch Hämoglobin in pulmonaren Kapillaren. Die Auswirkung des

eingeatmeten NOs auf die expiratorische NO-Konzentration bei Säuglingen wurde bislang nicht untersucht.

Variabilität der expiratorischen Flüsse

Ein weiterer vermeidbarer Einflussfaktor ist die Variabilität des expiratorischen Flusses. $F_{E_{NO}}$ sinkt mit höheren Flussraten (Silkoff et al., 1997). Kharitonov et al. (1997) erklärten dies dadurch, dass bei einem größeren Fluss das produzierte NO die Gelegenheit hat, sich in einem größeren Volumen aufzulösen und deshalb niedriger ist. Bei sehr langsamer Ausatmung wird hingegen mehr NO im vorhandenen Lumen während des Durchstroms der Luft gelöst (Lundberg et al., 1996, A). Durch einen expiratorischen Widerstand und aktive Kooperation der Probanden kann ein konstanter expiratorischer Fluss erzeugt werden (Kissoon et al., 2002).

Autoinhalation von NO aus den oberen Atemwegen

Ein weiterer Aspekt, der die Messung des NO aus den unteren Atemwegen beeinflussen kann, ist die Autoinhalation von NO aus den oberen Atemwegen. Der Einsatz der „single-breath“-Methode, mit Ausatmung gegen einen Widerstand, kann diese NO-Autoinhalation vermeiden. Voraussetzung hierfür ist ein positiver Expirationsdruck, der ausreicht, die unteren Atemwege durch Anlegen des Gaumensegels an die Rachenhinterwand vom Nasenrachenraum abzuschirmen (Silkoff et al., 1997).

Die „single-breath“-Methode erfüllt mehrere Voraussetzungen einer adäquaten $F_{E_{NO}}$ -Messung, wie das Einhalten eines konstanten expiratorischen Flusses, den Ausschluss einer Kontamination von nasalem NO durch Gaumensegel-Abschluss und zudem die Selektion adäquater Compliance durch online-Messung.

1.2.3 NO-Messung bei jüngeren Kindern, die nicht kooperieren

Die Durchführung der „single-breath“-Methode ist, aufgrund fehlender aktiver Mitarbeit, bei Säuglingen jedoch nicht anwendbar. Aus dem Jahre 2001 existiert eine Veröffentlichung von der European Respiratory Society und der American Thoracic Society über NO-Messungen insbesondere bei jungen Kindern, die noch nicht kooperieren können (ERS/ATS, 2002). Für solche Kinder sind folgende andere Techniken verfügbar:

Baraldi et al. (2000) stellten eine abgewandelte „single-breath“-Technik vor, bei der eine manuelle Flussregulation durch einen per Hand verstellbaren expiratorischen Widerstand erfolgte („flow-driven-method“). Während ruhiger Spontanatmung wurden die NO-Werte online aufgezeichnet. Die Ausatmung wurde durch den Betreuer kontrolliert, indem der expiratorische Atemfluss durch kontinuierliche Veränderung des expiratorischen Widerstandes reguliert wurde (Ziel: 50ml/s). Diese dynamische Regulation kann wie bei Baraldi et al. (2000) manuell oder durch automatische Flussregulatoren erfolgen (Pijnenburg et al., 2002). Bei der „flow-driven“-Methode waren nach Angaben von Baraldi et al. (2000) nur 7% der Kinder im Alter von vier bis acht Jahren nicht in der Lage, sie auszuführen, im Gegensatz zu 50% der Kinder in der gleichen Altersgruppe, welche die herkömmliche „single-breath“-Technik nicht ausführen konnten. Diese „flow-driven“-Methode ist auch von Buchvald et al. (2001) bei Kindern von zwei bis fünf Jahren erfolgreich angewandt worden.

In Ergänzung zu dieser online-Methode wurden bei kleinen Kindern auch offline-Methoden zur Anwendung gebracht (Elphick et al., 2001, Jobsis et al., 1999). Zum einen gibt es die unkontrollierte einzelne Ausatmung (unkontrollierte „single-breath“-Technik), bei der das Kind Luft über ein Mundstück in einen Ballon pustet. Einer nasalen Kontamination wird vorgebeugt, da das Kind gegen einen Widerstand von 5 cm H₂O bläst (Jobsis et al., 1999). Diese Methode besitzt jedoch den Nachteil, dass die Flussabhängigkeit und der Einfluss der Raumluft-NO-Konzentration nicht berücksichtigt werden.

Zum anderen existiert als mögliche offline-Methode das kontinuierliche ruhige Atmen („tidal-breathing“) in ein Reservoir, wie beispielsweise einen NO-undurchlässigen Ballon. Die Kinder atmen über ein Mundstück oder eine Gesichtsmaske NO-freie Luft ein und

gegen einen Widerstand aus. Diese Methode wurde auch schon bei Kindern ab dem elften Monat erfolgreich angewandt (Jobsis et al., 1999). Nachteilig ist allerdings u.a. die unbeachtete Flussregulation.

Bei Säuglingen überwiegt in der Literatur die Messung während einer ruhigen Spontanatmung. Offline-F_{E_{NO}}-Messungen bei Neugeborenen wurden u.a. durch Figueras-Aloy et al. (2003) durchgeführt. Die Arbeitsgruppe stellte erhöhtes F_{E_{NO}} bei Neugeborenen mit initialen Zeichen einer Neugeborenen-Infektion (Fieber etc.) fest. Sie ließ die Probanden NO-freie Luft aus einem Behältnis einatmen und sammelte die Ausatemluft in einem Ballon über eine Gesichtsmaske auf, die auf Mund und Nase gelegt wurde. Wenn ein Kind über zehn Sekunden schrie, wurde die expiratorische Luft über einen Seitenschenkel abgeleitet, um die Ergebnisse nicht zu verfälschen. Kissoon et al. (2002) stellten indessen eine Flussabhängigkeit nicht nur für online, sondern auch für offline-Messungen fest, die wiederum bei beschriebener Technik von Figueras-Aloy et al. (2003) keine Berücksichtigung fand.

Eine weitere offline-Methode wird in einer Veröffentlichung von Baraldi et al. (1999, B) beschrieben. Diese Arbeitsgruppe hat bei Kindern im Alter von elf bis 20 Monaten F_{E_{NO}} gemessen. Den Probanden wurde eine Maske über den Mund gehalten und durch kraniales Verschieben der Maske beide Nasenlöcher verschlossen. Eine Inspiration von NO-freier Luft aus einem flexiblen Reservoir wurde durch die Verbindung mit einem Zwei-Wege-Stück ermöglicht. Die Expiration erfolgte in einen Sammelbehälter, aus dem mit nur kurzer zeitlicher Verzögerung die Analyse der NO-Konzentration erfolgte. Die Apparatur bewirkte einen expiratorischen Widerstand von 2 cm H₂O. Damit wollten Baraldi et al. (1999, B) erreichen, dass keine Kontamination durch nasales NO entsteht.

Es gibt zudem bereits einige online-Methoden bei Säuglingen, die in der Literatur Erwähnung finden. In einer früheren Studie in unserer Klinik wurde NO in der Ausatemluft von Säuglingen mit obstruktiver Bronchitis gemessen (Ratjen et al., 2000). Hierbei wurde eine Gesichtsmaske über Mund und Nase gesetzt, allerdings ungeachtet der NO-Konzentrationen in der Raumluft. Diese Methode haben wir in unserer Studie aufgegriffen und mit anderen Methoden verglichen.

Im Gegensatz zu solchen Messungen während ruhiger Spontanatmung bei wachen oder spontan schlafenden Kindern stellten Wildhaber et al. (1999) bei Kindern im Alter von drei bis 24 Monaten eine modifizierte „single-breath“-Technik vor. Die Expiration erfolgte durch eine modifizierte „raised volume rapid thoracic compression-technique“ (RVRTC). Hierbei wird eine Kompression des Thorax und des Abdomens mit Hilfe einer mit Luft zu füllenden Jacke erreicht. Die passive Ausatmung erfolgt über eine Gesichtsmaske gegen einen Widerstand, darüber hinaus bei konstantem expiratorischem Fluss von 50ml/s. Zur Durchführung dieser Messung ist allerdings eine Sedierung notwendig, wohingegen wir in unserer Studie die unterschiedlichen Messmethoden während des physiologischen Spontanschlafs der kleinen Patienten durchführten.

Es gibt es also noch keinen Goldstandard für die NO-Messung der unteren Atemwege im Säuglingsalter.

1.2.4 NO-Messung der oberen Atemwege bei jüngeren Kindern und Säuglingen

Die nasalen Atemwege sind ein komplexes System miteinander kommunizierender Höhlen, wozu die nasalen Höhlen, die Nasennebenhöhlen, das Mittelohr und der Nasopharynx zählen. Bei Erwachsenen sind bereits verschiedene Methoden zur nasalen NO-Messung beschrieben worden, die im Detail den ATS / ERS- Empfehlungen zu entnehmen sind (ATS/ERS, 2005; ATS, 1999). Bei Säuglingen sind diese Empfehlungen jedoch, aufgrund fehlender Kooperation, nicht durchzuführen. Hinzu kommt, dass Säuglinge Nasenatmer sind und Techniken, die eine komplette nasale Okklusion erforderlich machen, nicht tolerieren.

Über Säuglinge findet man daher in der Literatur vorwiegend Angaben zu Messungen während ruhiger Spontanatmung („tidal-breathing“-Methode). Schedin et al. (1996; 1997) haben mehrfach nasales NO bei Neugeborenen und Frühgeborenen gemessen, indem sie im Ruhezustand nasale Luft mit 20ml/s kontinuierlich aus einem Nasenloch aspiriert haben, während die Probanden durch das andere Nasenloch weiteratmen konnten.

Eine ähnliche Methode haben auch Colnaghi et al. (2003) und Ratjen et al. (2000) in verschiedenen Untersuchungen der nasalen NO-Konzentration in den Atemwegen von Neugeborenen (innerhalb der ersten zwei Lebenstage) und Säuglingen (innerhalb der ersten elf Monate) angewandt. Letztere Arbeitsgruppe brachte, zum Vergleich der NO-Werte bei Säuglingen mit obstruktiver Bronchitis versus solcher ohne Atemwegserkrankungen, eine das Ostium okkludierende Olive mit eingearbeiteter NO-Sonde in ein Nasenloch ein, während die Kinder durch das andere weiteratmen konnten. Franklin et al. (2004) haben im Rahmen eines Vergleichs verschiedener Methoden nasales NO ebenfalls während ruhiger Spontanatmung gemessen, jedoch indem sie eine Maske über Mund und Nase bei geschlossenem Mund platzierten.

Es gibt also Studien, die offline- versus online-NO-Messungen vergleichen, nasale Atmung versus Mundatmung und NO-Messungen bei schlafenden versus wachen Probanden. Doch trotz zahlreicher Studien an Erwachsenen und älteren Kindern sind die Methoden der NO-Messung insbesondere für Säuglinge nicht ausgereift und genug erprobt. Daher sind weitere Studien zur Optimierung und Standardisierung der $F_{E_{NO}}$ -Messung bei Säuglingen erforderlich.

1.3 FRAGESTELLUNG

Ziele dieser Studie waren daher:

Der Vergleich von vier verschiedenen Verfahren zur Messung der NO-Konzentration in den Atemwegen von Säuglingen, um insbesondere

- nicht-invasive Methoden in ihrer Durchführbarkeit und Aussagekraft zu testen,
- festzustellen, ob es einen Einfluss der Raumluft-NO-Konzentration auf die expiratorisch gemessene NO-Konzentration bei Säuglingen gibt,
- zu untersuchen, ob und wann Säuglinge eine expiratorische NO-Messung bei Okklusion der Nase tolerieren, und
- nasale und gemischt-expiratorische NO-Konzentrationen zu vergleichen

2 STUDIENPOPULATION UND METHODIK

2.1 STUDIENPOPULATION

In dieser Studie wurden insgesamt 43 Säuglinge innerhalb ihrer ersten neun Lebensmonate untersucht (durchschnittliches Alter 58 Tage). Sie wurden entweder während ihres stationären Aufenthaltes im Zentrum für Kinder- und Jugendmedizin der Universitätsklinik Essen untersucht (n = 42) oder kurz nach ihrem stationären Aufenthalt auf der Säuglingsstation des Elisabeth-Krankenhauses in Essen (n = 1). Sämtliche NO-Messungen dieser Studie wurden von mir im Lungenfunktionslabor des Zentrums im Universitätsklinikum durchgeführt.

Zum Zeitpunkt der Messung befanden sich alle Probanden in einem stabilen Zustand ihrer Erkrankung. In der Tabelle 3 (siehe Anhang) sind die Diagnosen der Säuglinge aufgeführt. Eine Einverständniserklärung der Eltern lag vor Beginn der Messungen vor. Tabelle 2 gibt Auskunft über Geschlechtsverteilung und Alter der Patienten.

Tabelle 2:
Geschlechtsverteilung und Alter der Probanden

Methoden der NO-Messung	Anzahl der Probanden	Alter (Tage)
1) Nasal	20 (8w; 12m)	2 – 261 (M 80,9)
2) Maske über Mund und Nase, Einatmung von Raumluft	33 (12w; 21m)	1 – 261 (M 58,0)
3) Maske über Mund und Nase, Einatmung NO-freier Luft	25 (7w; 18m)	1 – 227 (M 49,6)
4) Maske über dem Mund bei verschlossener Nase	29 (6w; 23m)	1 – 227 (M 44,0)

w = weiblich, m = männlich, M = Mittelwert

2.1.1 Studiendesign

Es wurden insgesamt vier verschiedene Methoden zur Messung von Stickstoffmonoxid in der Ausatemluft von Säuglingen durchgeführt und miteinander verglichen. Bei den einzelnen Kindern wurden jeweils unterschiedlich viele der vier Untersuchungsmethoden angewandt. Das lag unter anderem daran, dass die Kinder vorzeitig erwacht sind und weitere Messungen im Wachzustand nicht toleriert haben, oder aber daran, dass die Raumluft-Konzentration zeitweilig null ppb betrug und ein Vergleich mit der Einatmung NO-freier Luft nutzlos gewesen wäre. Da sich letztere Situationen häuften, reagierten wir im Verlauf der Studie in solchen Fällen mit einer künstlichen NO-Anreicherung der Raumluft.

In den Vergleich der verschiedenen Methoden sind nur solche Messungen mit eingeflossen, bei denen unterschiedliche Messmethoden bei demselben Kind durchgeführt werden konnten. Diese Messungen erfolgten jeweils in der gleichen Reihenfolge innerhalb eines Tages. Vor den F_{ENO} -Messungen eines jeden Probanden wurde die Raumluft-NO-Konzentration gemessen und vermerkt. Die NO-Konzentrationen der verschiedenen Messungen bei demselben Kind wurden nur miteinander verglichen, wenn die Atemflüsse weniger als 25% voneinander abwichen:

- bei neun Kindern wurden alle vier Messmethoden durchgeführt
- bei zwölf Kindern wurden drei Messmethoden durchgeführt
- bei 13 Kindern wurden zwei Messmethoden durchgeführt
- bei neun Kindern wurde jeweils nur eine Messmethode durchgeführt.

2.1.2 Probanden mit nasaler NO-Messung

Die Gruppe, in der die nasale NO-Konzentration gemessen wurde, bestand aus 20 Patienten im Alter zwischen zwei und 261 Tagen (zwölf männliche und acht weibliche Säuglinge). Alle Untersuchungen wurden am schlafenden Kind durchgeführt.

2.1.3 Probanden mit NO-Messung über Mund- und Nasen-Maske bei Einatmung von Raumluft

Der Gruppe, in der die NO-Konzentration mit Hilfe eine Maske über Mund und Nase gemessen wurde, gehörten 33 Patienten im Alter zwischen zwei und 261 Tagen an (21 männliche und zwölf weibliche Säuglinge). Alle Patienten schliefen während der Untersuchung und atmeten Raumluft.

2.1.4 Probanden mit NO-Messung über Mund- und Nasen-Maske bei Einatmung NO-freier Luft

In dieser Gruppe befanden sich 25 Patienten im Alter zwischen zwei und 227 Tagen (18 männliche und sieben weibliche Säuglinge). Alle Patienten schliefen während der Untersuchung und atmeten NO-freie Luft aus einem Ballon.

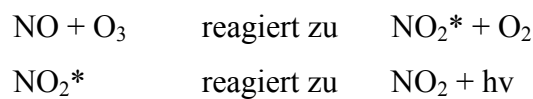
2.1.5 Probanden mit NO-Messung über Mund-Maske bei verschlossener Nase

In diese Gruppe wurden 29 Patienten im Alter zwischen zwei und 227 Tagen (23 männliche und sechs weibliche Säuglinge) untersucht. Alle Patienten schliefen während der Untersuchung und atmeten Raumluft.

2.2 METHODIK

2.2.1 Verfahren der NO-Messung (NO-Analyzer)

Die Messungen der NO-Konzentration wurden mit einem NO-Analyzer (NOA 280) der Firma Sievers Instruments (Boulders, CO, U.S.A.) durchgeführt. Das Gerät arbeitet nach dem Messprinzip der Chemilumineszenz. Es handelt sich dabei um die Erfassung der Emission von Lichtquanten ($h\nu$), die bei der Reaktion zwischen Stickstoffmonoxid (NO) und Ozon (O_3) entstehen. Die Reaktionsgleichung lautet:



$h\nu$ = Lichtquanten

NO_2^* = elektrisch angeregter Stickstoffdioxid

Die Emission des elektrisch angeregten Stickstoffdioxids liegt im roten Bereich des Lichtspektrums nahe dem Infrarotbereich und kann hier mittels einer Photozelle gemessen werden. Die Quantität dieses Lichtes ist proportional zur NO-Konzentration. Die Sensitivität des Gerätes liegt für Messungen von NO in Gas unter 1 part per billion (ppb). Der Messbereich des Gerätes für NO in der Gasphase liegt zwischen 0 und 500.000 ppb, die Messgeschwindigkeit bei 200 Millisekunden.

Bei gegebener Pumpenleistung bestimmen der Probendurchfluss und der Widerstand des zuführenden Schlauchsystems den Druck in der Messkammer und damit die Signalausbeute. Bei den vorliegenden Messungen wurde als vorgegebener Widerstand eine Glasfritte verwendet, die den zuströmenden Gasfluss bei 55 ml/min beschränkte.

Das Gerät wurde mit zertifiziertem Eichgas in einer Konzentration von 200 ppb (Firma Messer Griesheim, Duisburg) und Sauerstoff als Nullgas vor jeder Messung geeicht. Eine Abweichung von 5 % des Sollwertes wurde für die Eichung toleriert.

2.2.2 Messung des Atemflusses (Pneumotachograph)

Der Atemfluss wurde während der Ausatmung mit einem Pneumotachographen Typ 1 von A. Fleisch (Hugo Sachs Elektronik KG, March/Freiburg) gemessen. Dieser funktioniert nach dem Prinzip, dass der Widerstand in einem Rohr für einen Druckabfall längs des Hindernisses sorgt. Nach dem Hagen-Poiseuille'schen Gesetz für laminare Strömungen ist der errechnete Differenzdruck (mm H₂O) proportional zur Luftströmungsstärke bzw. dem Luftfluss (ml/min). Der von uns benutzte Integrator (HSE-Physio, Hugo Sachs Elektronik KG, March/Freiburg) ist ein analog arbeitender Rechenverstärker, der rhythmische und auch beliebig zeitlich veränderliche Vorgänge integriert. Die Berechnung des expiratorischen Flusses ergab bei den Teilnehmern Messwerte zwischen 12 und 108 ml/s. Der Pneumotachograph wurde vor den Messungen eines jeden Patienten geeicht.

2.2.3 Aufzeichnung der Messparameter

Die Ergebnisse wurden alle analog auf einen linearen Schreiber (Multi-Pen-Recorder R64, Hugo Sachs Elektronik, March/Freiburg) aufgezeichnet. Mit diesem selbstabgleichenden Vierkanal-Linienschreiber war es möglich, die simultane Registrierung der Parameter durchzuführen. Damit wurden neben den NO-Konzentrationen auch die Atemflusskurven aufgezeichnet. Bei den Messungen wurde eine Schreibergeschwindigkeit von 30 cm/min eingestellt.

2.2.4 Erste Methode: Messung der nasalen NO-Konzentration

Die Messung der NO-Konzentration in den oberen Atemwegen entspricht der Messung der NO-Konzentration in der Nase und den daran angeschlossenen Nasennebenhöhlen. Für diese Messung wurde eine Kunststoff-Olive verwendet, die das Nasenostium verschließt. In dieser Olive war die Sonde zur NO-Messung eingearbeitet. In der verschlossenen Nasenhöhle akkumulierte das NO in dem nun nicht mehr ventilierten Nasenloch, was zunächst zu einem rapiden Anstieg der NO-Konzentration führte. Im Laufe von Sekunden bis Minuten stellte sich ein NO-Bereich ein, um den die NO-Werte pendelten (Abb. 2). Ausgewertet wurde jeweils ein Zeitfenster von mindestens 17 bis höchstens 60 Sekunden. Die Mittellinie, um welche die NO-Höchstwerte (NO-Peaks) gleichmäßig schwankten, wurde dabei als Plateau gewertet. Dieses Plateau der NO-Konzentrationen wurde nacheinander jeweils dreimal für beide Ostien aufgezeichnet. Als Ergebnisse wurde jeweils für das linke und rechte Ostium der Mittelwert aus drei Messungen errechnet.

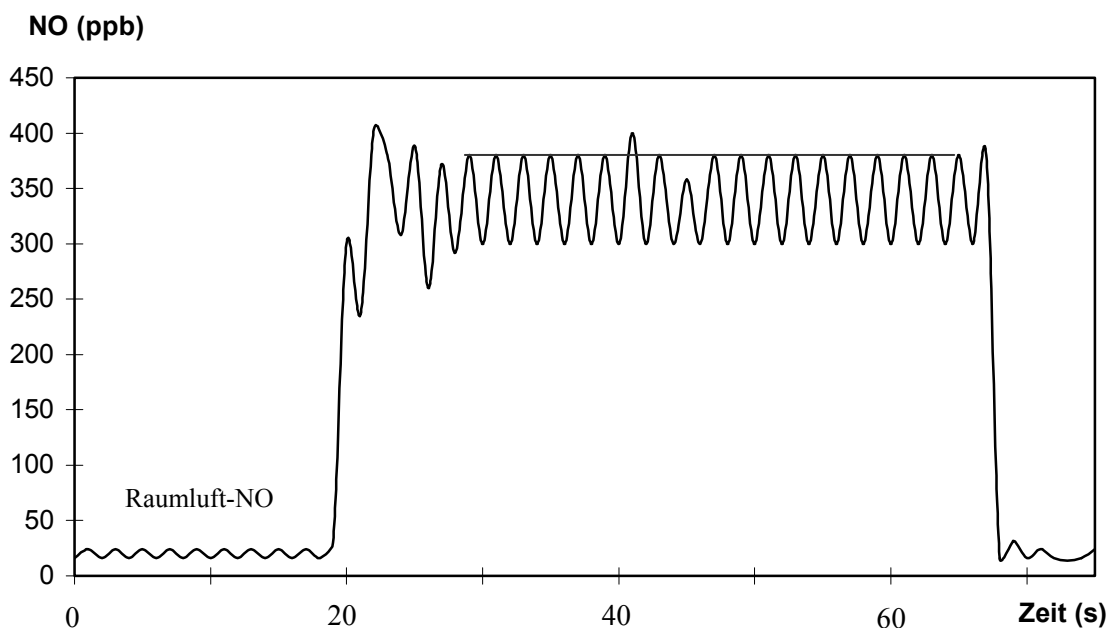


Abbildung 2:
Beispielhafter Verlauf der NO-Konzentration bei einer nasalen NO-Messung
 (graphisch nachgestellter Kurvenverlauf)

Zunächst erfolgte eine Aufzeichnung der Raumluft-NO-Konzentration. Zu Beginn der nasalen NO-Messung wurde zunächst ein rapider Anstieg der NO-Konzentration aufgezeichnet, im Anschluss daran ein Bereich, in dem die NO-Werte stabil um ein Plateau schwankten. Zur Auswertung wurde eine graphische Mittellinie der NO-Höchstwerte (NO-Peaks) herangezogen.

2.2.5 Zweite Methode: Messung von $F_{E_{NO}}$ über Mund und Nase bei Einatmung von Raumluft

Bei der Messung der gemischt-expiratorischen NO-Konzentration, d.h. der NO-Konzentration aus den oberen und unteren Atemwegen, wurde wie folgt vorgegangen. Eine Säuglingsmaske, wie sie bei der Beutelbeatmung verwendet wird, wurde auf ein Y-Stück gesetzt, an das über ein Adapterstück der Pneumotachograph angeschlossen war. In den Adapter eingearbeitet war der Schlauch für die Messungen des NO. Die Maske wurde dicht auf das Gesicht des Säuglings gesetzt um sowohl Mund als auch Nase zu umschließen. Bei Undichtigkeiten wurde Knetmasse zum Abdichten verwendet. Das Y-Stück (Two-Way Non-Rebreathing Valves / Y-Shape, Series 2210/Hans Rudolph, inc./ Kansas City, MO USA) (Abb. 3) hat drei Schenkel, einen für Einatmung, einen für Ausatmung und einen, auf den die Säuglingsmaske aufgesetzt wurde. Ein- und Ausatem-Schenkel haben jeweils ein Ventil, um den Atemfluss der In- und Expirationsluft zu trennen.

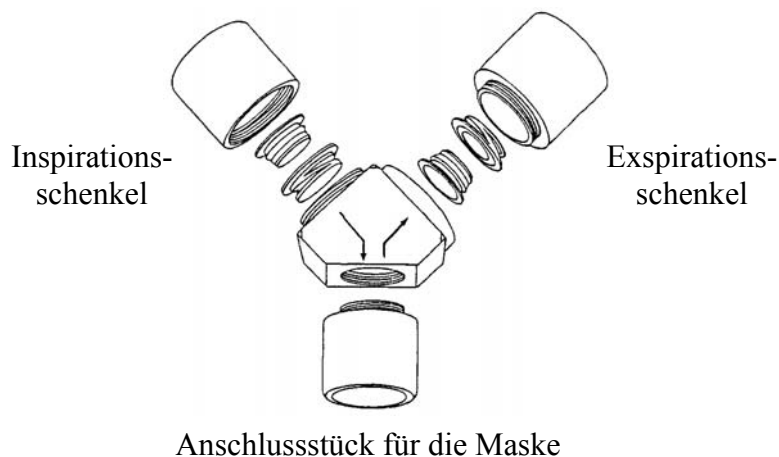


Abbildung 3:

Y-Stück mit drei Schenkeln, für Einatmung, Ausatmung und Säuglingsmaske.

(Y-Stück, Two-Way Non-Rebreathing Valves, Series 2210, Extra Small; Hans Rudolph, inc., Data Sheet, 1992)

Im Falle einer Raumluft-NO-Konzentration von null ppb wurde die Raumluft künstlich mit NO angereichert. Dazu wurde bei insgesamt fünf Säuglingen an den Inspirationsschenkel des Mundstückes ein mit Luft gefüllter NO-undurchlässiger Ballon mittels eines Adapterstückes befestigt, in den zuvor mit Hilfe von Eichgas in einer Konzentration von 200 ppb NO-Konzentrationen von 17,0 ppb bis 21,6 ppb gemischt wurden. Vor Beginn der Messung atmeten die Patienten mindestens zehn Atemzüge dieses Gasgemisches ein. Ohne ein Absetzen der Maske schloss sich direkt daran der Messvorgang an, währenddessen die

Säuglinge weiterhin ausschließlich Luft aus dem NO-angereicherten Reservoir atmeten. Zu Beginn der FE_{NO}-Messung zeigte die aufgezeichnete NO-Kurve noch Schwankungen, danach stellte sich ein Plateau ein. Zeitgleich zu den NO-Messungen wurden Flussveranderungen der Atemzüge, die den atemabhangigen Schwankungen der In- und Expiration entsprachen, aufgezeichnet (Abb. 4). Dadurch konnten die Abschnitte der NO-Konzentrationskurve während einer ruhigen Atemphase zur Auswertung verwendet werden. Zeitabschnitte, in denen starke Flussschwankungen registriert wurden, beispielsweise durch unregelmäßige Atmung, wurden von der Auswertung ausgenommen. Es wurde jeweils eine Periode von mindestens zehn Atemzügen (bzw. mindestens 20 Sekunden) zur Auswertung herangezogen. Als Mittelwert wurde zeichnerisch eine Mittellinie gezogen, um die die NO-Peaks schwankten. Die Messung wurde bei jedem Patienten dreimal durchgeführt. Von den NO-Konzentrationen dieser drei Messungen wurde der Mittelwert errechnet und als Ergebnis verwendet.

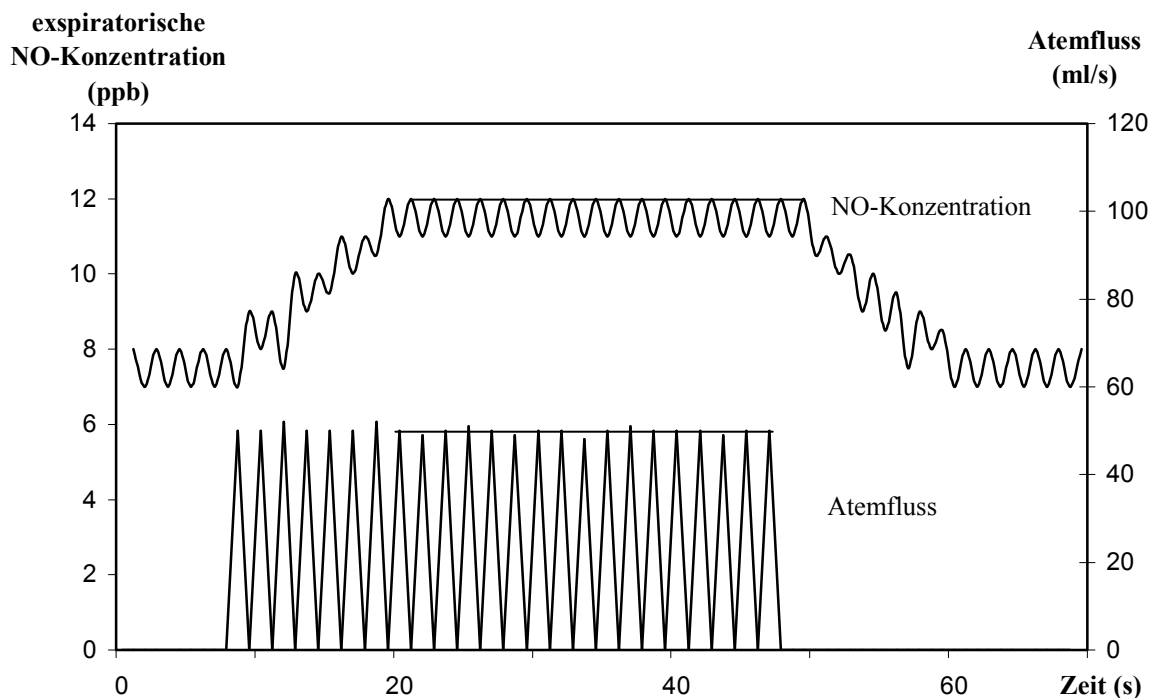


Abbildung 4:

Beispielhafter Verlauf der expiratorischen NO-Konzentration bei einer NO-Messung über Mund- und Nasen-Maske (graphisch nachgestellter Kurvenverlauf)

Nach Aufzeichnung der Raumluft-NO-Konzentration (ppb) (obere Kurve), folgte ein Einpendeln auf die jeweilige NO-Konzentration in der Ausatemluft. Zeitgleich wurden die Atemzüge (untere Kurve) durch Registrierung des Atemflusses (ml/s) aufgezeichnet. Zur Auswertung wurde der Bereich einer ruhigen Atemphase herangezogen, in dem die NO-Konzentrationen den geringsten Schwankungen unterlagen. Dazu wurde graphisch eine Mittellinie durch die NO-Peaks (NO-Höchstwerte) gezogen.

2.2.6 Dritte Methode: Messung von $F_{E_{NO}}$ über Mund und Nase bei Einatmung von NO-freier Luft

Bei der dritten Methode wurde nahezu die gleiche Messapparatur wie unter 2.2.5 beschrieben verwendet. Der einzige Unterschied bestand darin, dass an den Inspirations-schenkel des Mundstückes über einen Adapter ein gasgefüllter Ballon befestigt wurde, der NO-freie Luft (< 1 ppb) enthielt. Diese Luft wurde wenige Sekunden vor der Messung aus einer wandständigen Druckluftzufuhr über einen NO-Filter (W.E.Collins 022365-E) in diesen Ballon gefüllt. Während des Messvorgangs atmete der Patient ausschließlich Luft aus diesem NO-freien Reservoir ein.

Auch bei dieser Methode zeigte die gemessene NO-Kurve zu Beginn der Messung Schwankungen, bevor sich ein Plateau einstellte. Zur Auswertung wurde der Zeitabschnitt herangezogen, in dem ruhige, gleichmäßig tiefe Atemzüge aufgezeichnet werden konnten. Diese wurden anhand des zeitgleich aufgezeichneten Atemflusses registriert.

Im Gegensatz zu der im Kapitel 2.2.5 beschriebener Auswertung ging nun dem auswertbaren Zeitabschnitt eine Phase voraus, in der bei allen Kindern mindestens zehn Atemzüge mit Einatmung NO-freier Luft registriert wurden. Hiermit konnte gewährleistet werden, dass in den Atemwegen noch vorhandenes NO aus zuvor eingeatmeter Raumluft, wieder ausgeatmet wurde. Erst danach wurde im direkten Anschluss, ohne ein Absetzen der Maske, ein Abschnitt gleichmäßiger NO-Konzentrationen ausgewertet. Wie bei den vorhergehenden wurde auch bei dieser Methode eine graphische Mittellinie durch die NO-Höchstwerte (NO-Peaks) zur Auswertung gezogen. Dieser Abschnitt umfasste ebenfalls mindestens zehn Atemzüge (bzw. mindestens 20 Sekunden). Jede Messung wurde dreimal durchgeführt. Von den NO-Konzentrationen dieser drei Messungen wurde der Mittelwert errechnet und als Ergebnis verwendet.

2.2.7 Vierte Methode: Messung von FE_{NO} über dem Mund bei verschlossener Nase und Einatmung von Raumluft

Die Messapparatur ähnelte der, die im Kapitel 2.2.5 beschrieben wurde. Diesmal wurde die Maske jedoch nicht über Mund und Nase, sondern nur auf den Mund aufgesetzt. Die Maske wurde anschließend langsam verschoben bis der kraniale Rand der Maske die beiden Nasenostien verlegte und somit keine Nasenatmung mehr möglich war. Die Atmung des Kindes wurde dabei optisch und durch die Messung des Atemflusses via Pneumotachograph überwacht. Wenn keine Atemzüge aufgezeichnet werden konnten, wurde die Messung nach 20 bis maximal 25 Sekunden abgebrochen. Die Auswertung erfolgte wie unter Kapitel 2.2.5 beschrieben. Jede Messung wurde mindestens dreimal durchgeführt. Von den gemessenen drei NO-Konzentrationen wurde jeweils der Mittelwert errechnet und als Ergebnis verwendet.

2.2.8 Statistik

Alle Daten wurden mit dem Statistikprogramm PC Statistik Version 2.11 (Topsoft, Hannover) bzw. mit S-PLUS Version 4.5 ausgewertet. Die Graphiken wurden mit Hilfe von Microsoft Excel XP erstellt. Die Darstellung der Messwerte von Gruppen erfolgte als Mittelwert (M) mit Angabe der Standardabweichung (SD). Für Korrelationen zwischen zwei Parametern wurden der Korrelationskoeffizient ($r =$ Produkt-Moment-Korrelationskoeffizient) und das Signifikanzniveau (p) angegeben. Als statistisch signifikant angesehen wurden alle Unterschiede mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit unter 5 % ($p < 0,05$). Da die Differenzen bei Einatmung von Raumluft versus NO-freier Luft nicht normalverteilt waren (Kolmogorov-Smirnov-Test), erfolgte der Vergleich mit Hilfe des Wilcoxon-Mann-Whitney-Test für gepaarte Stichproben. Zusätzlich wurde für den Vergleich der NO-Konzentrationen in beiden Nasenostien das Verfahren nach Bland und Altman (1986) angewandt. Hierbei wird die prozentuale Abweichung vom Mittelwert in einem Diagramm dargestellt.

3 ERGEBNISSE

3.1 GEGENÜBERSTELLUNG DER VERSCHIEDENEN NO-MESS-METHODEN UND EINFLUSSFAKTOREN

3.1.1 Einfluss der Raumluft auf das FE_{NO}

Zwischen der Raumluft-NO-Konzentration und dem FE_{NO} bei Einatmung von Raumluft bestand eine signifikante positive Korrelation ($r = 0,82$; $p < 0,0001$; $n = 32$) (Abb. 5).

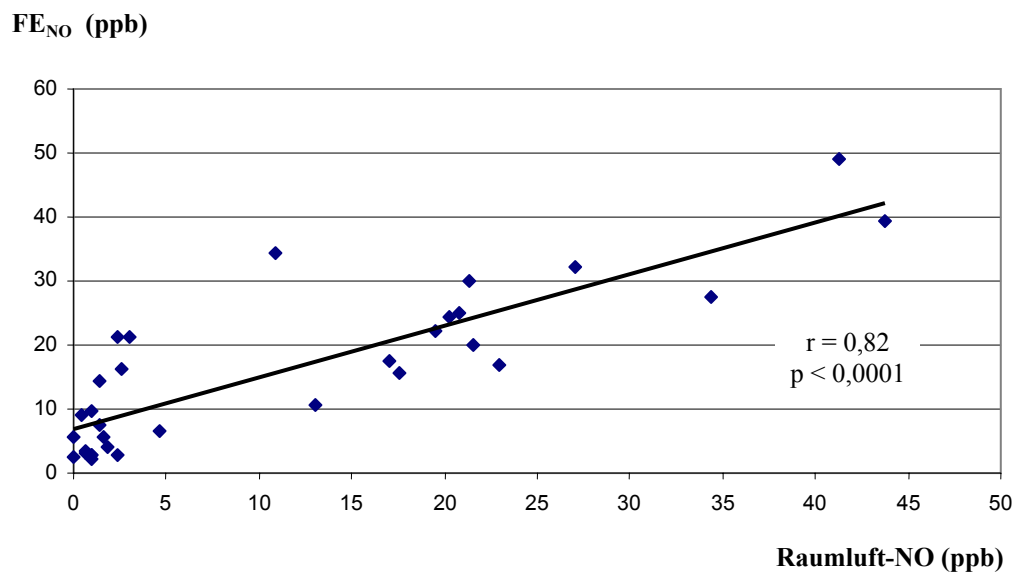


Abbildung 5:
Zusammenhang zwischen der Raum-NO-Konzentration und FE_{NO} bei Einatmung von Raumluft

Zwischen der Raumluft-NO-Konzentration und $F_{E_{NO}}$ bei Einatmung von NO-freier Luft bestand ebenfalls eine geringe, aber statistisch signifikante, Korrelation ($r = 0,53$; $p < 0,01$; $n = 24$) (Abb. 6).

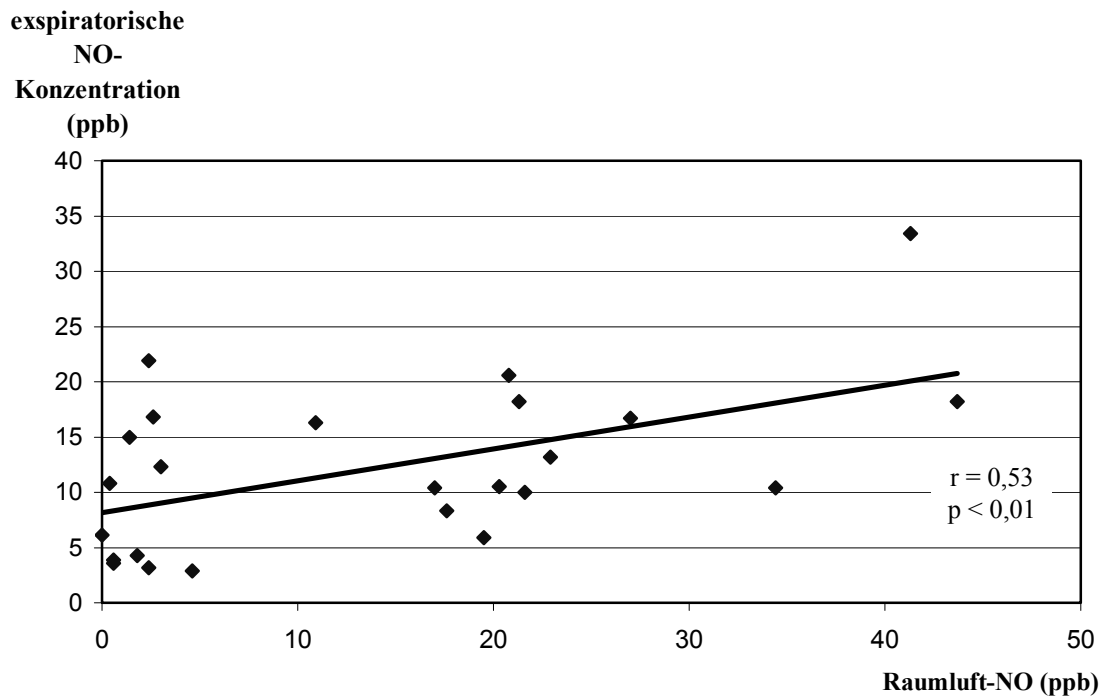


Abbildung 6:
Korrelation von Raum-NO-Konzentration und $F_{E_{NO}}$ bei Einatmung NO-freier Luft

3.1.2 Vergleich des FE_{NO} bei Einatmung von Raumluft und NO-freier Luft

Bei Einatmung NO-freier Luft wurden gegenüber den Messungen, bei denen Raumluft eingeatmet wurde, signifikant niedrigere FE_{NO} -Werte gemessen ($Z = -2,99$, $p = 0,003$, Wilcoxon-Test). Der Mittelwert für die NO-Konzentrationen bei Einatmung von Raumluft (durchschnittliche Raumluft-NO-Konzentration von $14,1 \pm 13,5$ ppb²) lag bei $19,3 \pm 12,3$ ppb, der Mittelwert für die NO-Konzentrationen bei Einatmung NO-freier Luft bei $12,2 \pm 7,3$ ppb (im Durchschnitt $7 \pm 7,5$ ppb niedriger). Die einzelnen Mittelwerte sind der Tabelle 4 (siehe Anhang) zu entnehmen.

In Abbildung 7 werden die Differenzen im FE_{NO} den steigenden Raumluft-NO-Konzentrationen gegenübergestellt. Es bestand eine signifikante Korrelation zwischen diesen Raum-NO-Konzentrationen und den Differenzen im FE_{NO} ($r = -0,83$; $p < 0,0001$).

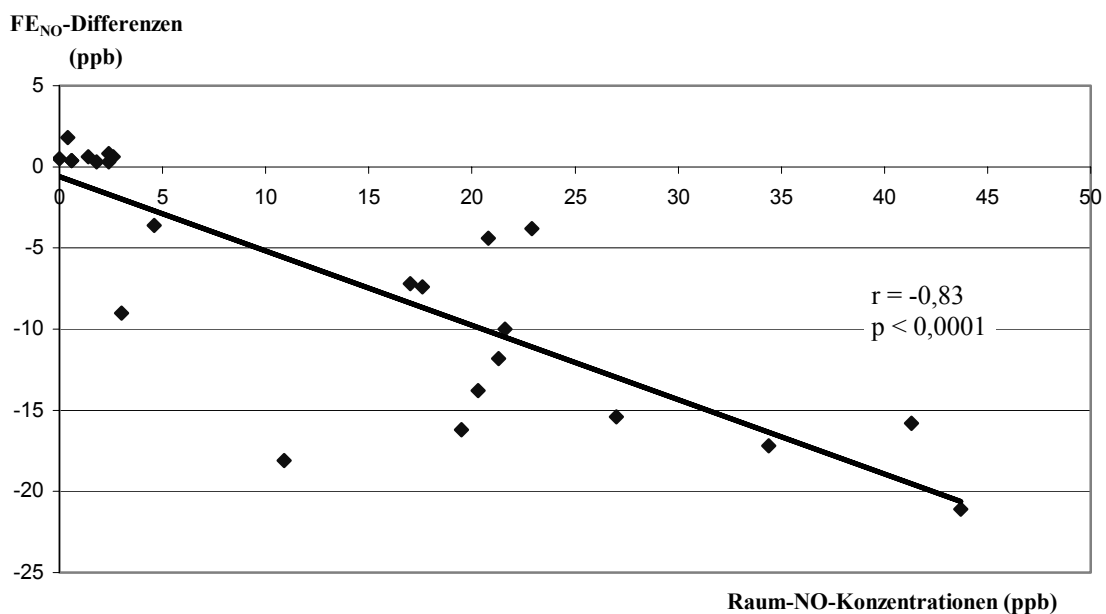


Abbildung 7:
Differenzen des FE_{NO} bei Einatmung von Raumluft gegenüber NO-freier Luft bei steigenden Raum-NO-Werten (Darstellung 1)

Bei Einatmung NO-freier Luft wurden gegenüber den Messungen, bei denen Raumluft eingeatmet wurde, signifikant niedrigere FE_{NO} -Werte gemessen. Auf der Ordinate sind die FE_{NO} -Differenzen beider Messungen aufgetragen, die Abszisse stellt die in der Raumluft gemessenen NO-Konzentrationen dar. Jedes Symbol repräsentiert ein Individuum.

² Mittelwert \pm Standardabweichung

In Abbildung 7 wird ferner deutlich, dass ein relevanter Einfluss auf das FE_{NO} bereits ab einer Raumluft-NO-Konzentration von 3 ppb bestand. Zusätzlich werden diese Messungen in Abbildung 8 dargestellt, in der beide FE_{NO} -Werte eines Säuglings aufgetragen und deren Differenzen durch jeweils eine Verbindungslinie deutlich gemacht werden.

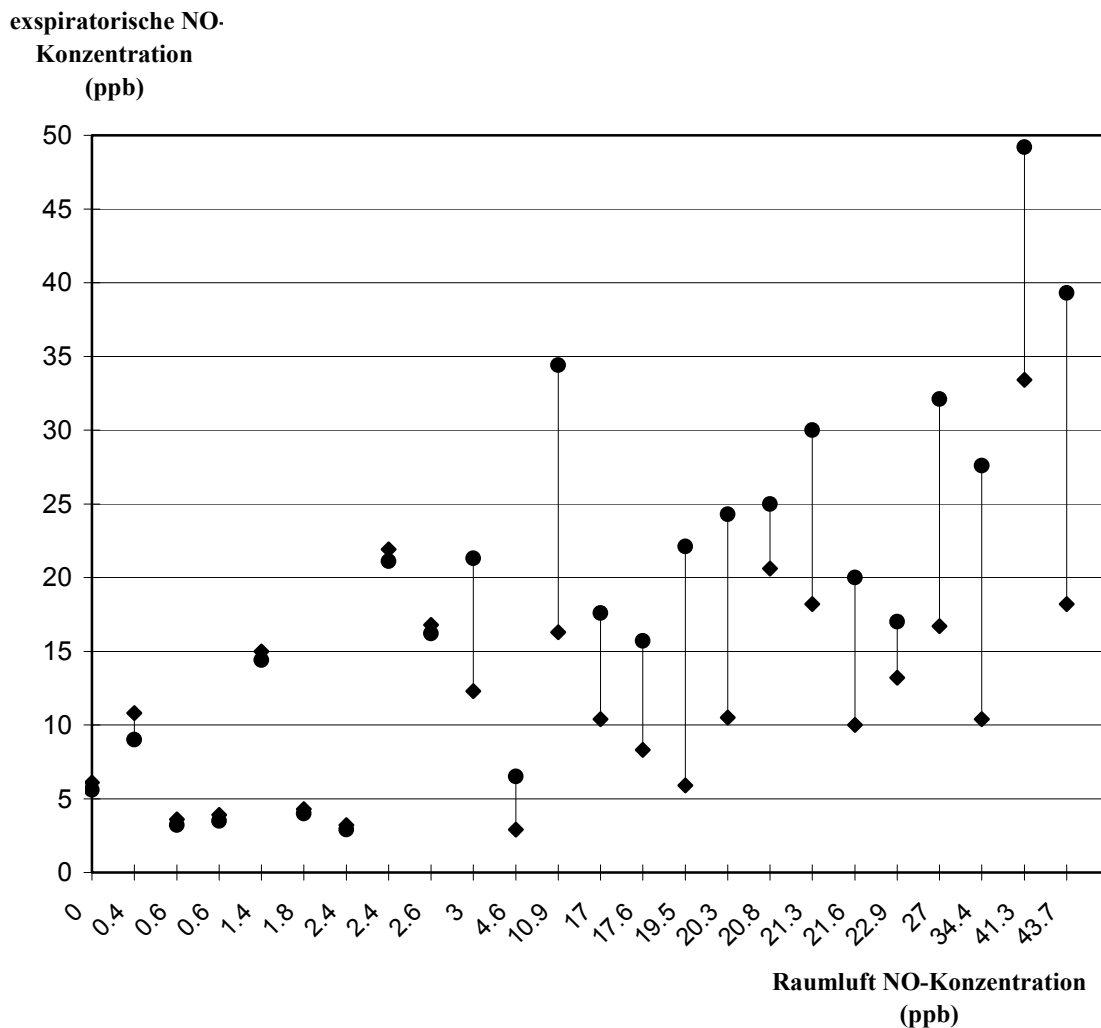


Abbildung 8:
Differenzen des FE_{NO} bei Einatmung von Raumluft gegenüber NO-freier Luft bei steigenden Raum-NO-Werten (Darstellung 2)

Für jeden Säugling sind jeweils zwei Messwerte aufgetragen, zum einen das FE_{NO} bei Einatmung von Raumluft (als Punkt dargestellt), zum anderen bei Einatmung von NO-freier Luft (als Viereck dargestellt). Beide Messwerte sind jeweils durch eine Linie miteinander verbunden, welche die Differenz beider Werte darstellt. Die Messungen sind nach steigenden Raum-NO-Konzentrationen aufgetragen. Die Skalierung der Abszisse ist hierbei der Übersicht halber so gewählt, dass die Raum-NO-Konzentrationen den aufgetragenen absoluten Werten entsprechen, nicht jedoch den reellen Abständen.

3.1.3 Vergleich nasaler und gemischt-expiratorischer NO-Konzentrationen

Ein weiteres Ziel dieser Studie war es, nasale (Messungen mit Hilfe einer Kunststoff-Olive) und gemischt-expiratorische NO-Konzentrationen (Messungen mit Hilfe einer Maske über Mund und Nase) miteinander zu vergleichen. Bei der nasalen Messung wurden erheblich höhere NO-Konzentrationen gemessen. Der Mittelwert lag bei 212,3 ($\pm 170,4$) ppb für das rechte bzw. 249,6 ($\pm 202,3$) ppb für das linke Nasenloch, wohingegen der Mittelwert der gemischt-expiratorisch gemessenen NO-Werte 10,1 ($\pm 6,9$) ppb betrug. Die einzelnen Mittelwerte sind aus der Tabelle 5 (siehe Anhang) abzulesen. In diese Ergebnisse sind nur die nasalen Messungen von Säuglingen eingeflossen, bei denen sowohl die nasale als auch u.a. die Maskenmessung durchgeführt werden konnte. Es bestand eine signifikante Korrelation zwischen den NO-Werten der nasalen und gemischt-expiratorischen Messungen ($r = 0,68$; $p = 0,023$; $n = 11$) (Abb. 9).

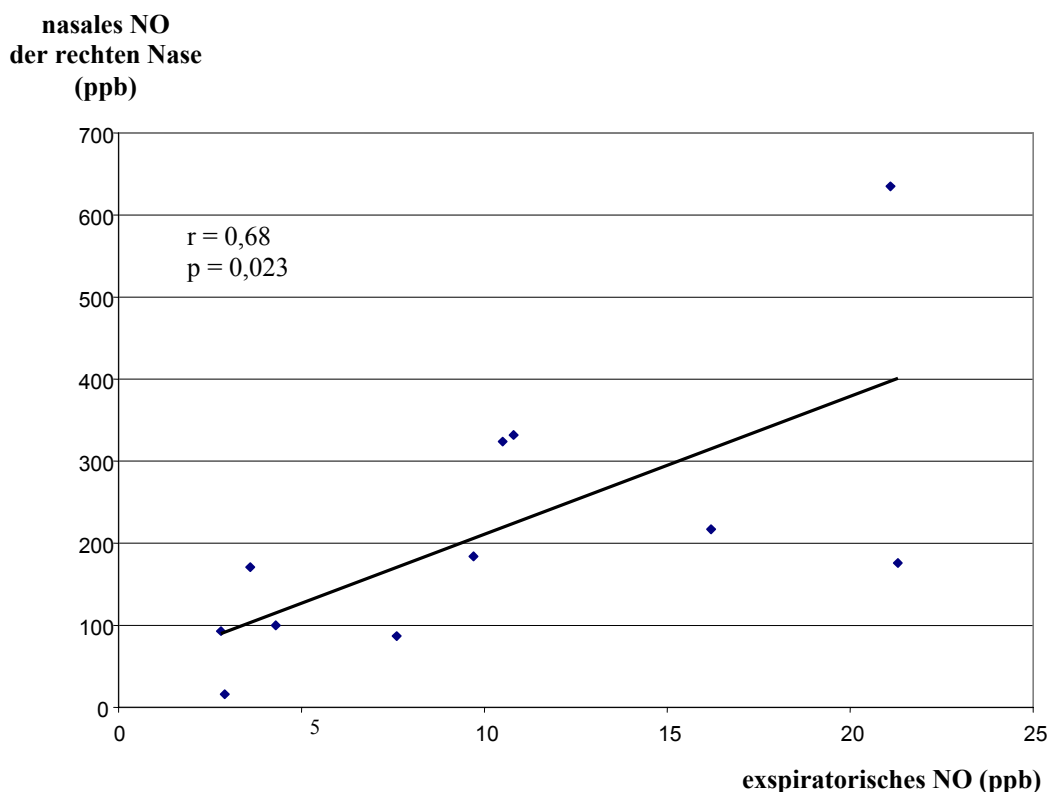


Abbildung 9:

Korrelation zwischen nasalem NO und gemischt-expiratorischem NO

Jeder Punkt repräsentiert ein Individuum, bei dem sowohl die nasale (rechte Nase) als auch die gemischt-expiratorische NO-Messung (über eine Mund- und Nasen-Maske) durchgeführt wurde. Beide Messungen erfolgten bei Einatmung von Raumluft-NO. Es bestand eine signifikante Korrelation zwischen den NO-Werten der nasalen und expiratorischen Messungen.

3.2 DURCHFÜHRBARKEIT UND ERGEBNISSE DER VIER METHODEN ZUR MESSUNG DER EXPIRATORISCHEN NO-KONZENTRATION

3.2.1 Erste Methode: Messung der nasalen NO-Konzentration

Die Messungen von NO in den oberen Atemwegen wurden jeweils in beiden Nasenostien durchgeführt. Wie man der Abbildung 10 entnehmen kann, sind die NO-Konzentrationen in beiden Nasenostien hochsignifikant miteinander korreliert ($r = 0,9$; $p = 0,0001$; $n = 16$). Zusätzlich wurden diese Messungen in Abbildung 11 als Vergleich in einer Darstellung nach Bland und Altman (1986) dargestellt. Diese zeigt die prozentuale Abweichung der nasalen NO-Konzentrationen vom Mittelwert.

Die Messung der NO-Konzentration in der Nase war bei 16 von 20 schlafenden Kindern problemlos möglich. Bei zwei Kindern mit Rhinitis wurde bei sehr starken NO-Schwankungen kein NO-Plateau erreicht, das zur Auswertung herangezogen werden konnte. Bei zwei weiteren Kindern war die nasale Messung wegen einer liegenden Magensonde nur in einem Nasenloch möglich.

Tabelle 6 (siehe Anhang) stellt die NO-Konzentrationen aus dem rechten und linken Nasenloch gegenüber. Die Mittelwerte der gemessenen expiratorischen NO-Konzentrationen schwankten im Bereich zwischen 16 und 635 ppb, wobei der Mittelwert der im rechten Nasenloch gemessenen NO-Konzentration 229,4 ($\pm 157,1$) ppb betrug, gegenüber dem Mittelwert von 245,0 ($\pm 173,6$) ppb im linken Nasenloch (hierbei sind die Ergebnisse aller durchgeführten nasalen Messungen eingeflossen).

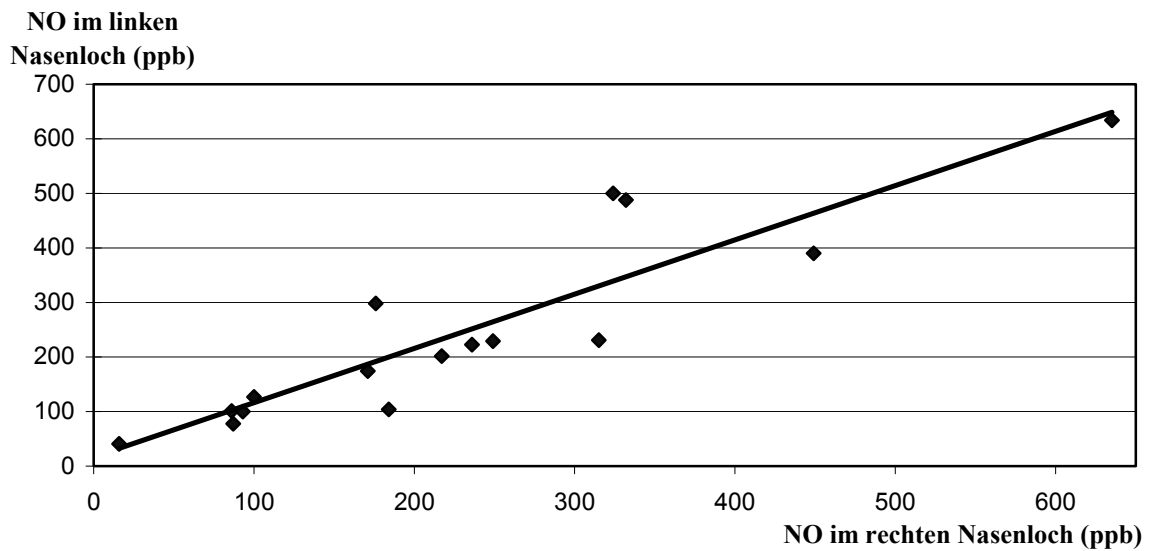


Abbildung 10:
Korrelation der NO-Konzentrationen von rechtem und linkem Nasenloch.
 Jedes Symbol repräsentiert ein Individuum. Es bestand eine signifikante positive Korrelation der NO-Konzentrationen.

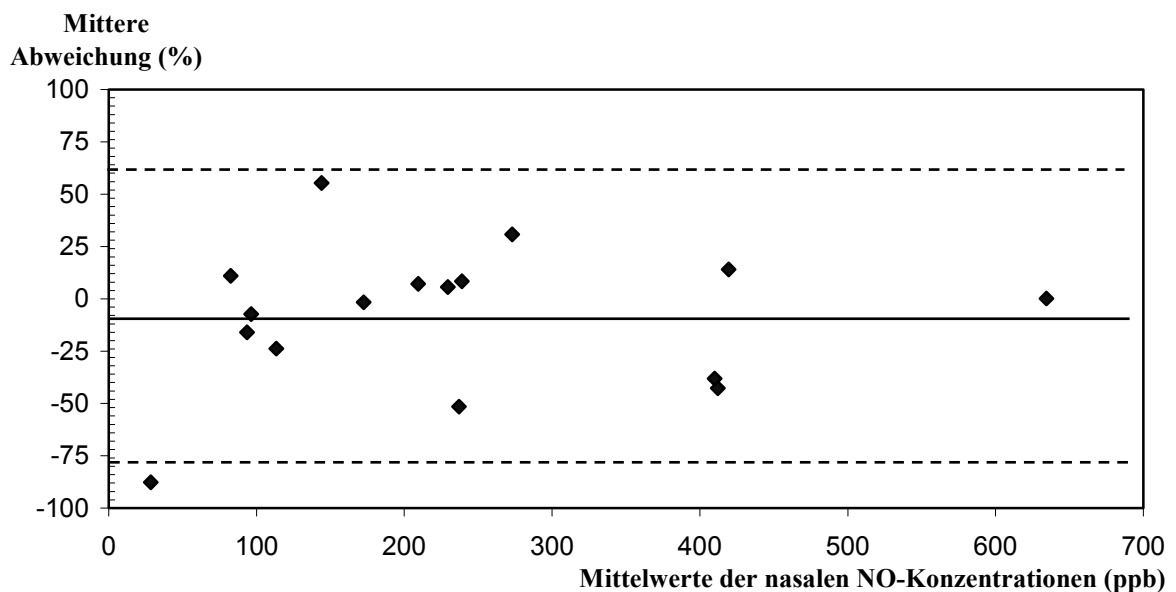


Abbildung 11:
Vergleich der NO-Konzentration beider Nasenostien nach Bland und Altman.
 Die Abszisse zeigt den Mittelwert der Messwerte, die Differenzen der beiden Nasenostien sind auf der Ordinate als Abweichung vom Mittelwert in Prozent dargestellt. Die Mittellinie repräsentiert die mittlere prozentuale Abweichung (-8,5%). Jeder Punkt repräsentiert einen Teilnehmer. Die gestrichelten Linien geben den Bereich von zwei Standardabweichungen wieder ($\pm 2 \times 34,5\%$). Es konnte kein systematischer Unterschied zwischen den NO-Konzentrationen in den jeweiligen Nasenostien gefunden werden.

3.2.2 Zweite Methode: Messung des $F_{E_{NO}}$ über Mund und Nase bei Einatmung von Raumluft

Die Messung des $F_{E_{NO}}$ mit Hilfe einer Maske über Mund und Nase bei Einatmung von Raumluft war bei 32 von 33 Kindern möglich. Voraussetzung hierfür war insbesondere ein fester Schlaf des Kindes. Insgesamt waren die Messungen vor allem durch Kopfbewegungen der Säuglinge erschwert. Im Wachzustand war die Messung wegen gezielter Abwehrbewegungen nicht möglich. Bei einem Kind konnten nach Aufsetzen der Maske keine Atemzüge mehr über den Pneumotachographen registriert werden, so dass die Untersuchung abgebrochen werden musste.

Die Messungen wurden bei Raumluft-NO-Konzentrationen von 0 bis 43,7 ppb durchgeführt (durchschnittlich $11,2 \pm 12,9$ ppb). Die Mittelwerte der jeweils höchsten expiratorischen NO-Konzentrationen (NO-Peaks) schwankten im Bereich zwischen 2,3 ppb und 49,2 ppb, wobei der Mittelwert bei $15,8 (\pm 12,3)$ ppb lag. Der Tabelle 7 (siehe Anhang) sind die Mittelwerte der einzelnen Patienten zu entnehmen.

3.2.3 Dritte Methode: Messung von $F_{E_{NO}}$ über Mund und Nase bei Einatmung NO-freier Luft

Die Messung des $F_{E_{NO}}$ mit Hilfe einer Maske über Mund und Nase bei Einatmung von NO-freier Luft war bei 24 von 25 Kindern möglich. Voraussetzung hierfür war ein fester Schlaf. Wie bei der zweiten Methode waren die Messungen ebenfalls vor allem durch Kopfbewegungen der Säuglinge erschwert und im Wachzustand nicht möglich. Bei einem Kind konnten nach Aufsetzen der Maske keine Atemzüge mehr registriert werden, so dass die Untersuchung unterbrochen werden musste.

Die Mittelwerte der jeweils höchsten expiratorischen NO-Konzentrationen (NO-Peaks) schwankten im Bereich zwischen 2,9 ppb und 33,4 ppb, wobei der Mittelwert bei $12,2 (\pm 7,3)$ ppb lag. Die einzelnen Mittelwerte der Patienten sind der Tabelle 8 (siehe Anhang) zu entnehmen.

3.2.4 Vierte Methode: Messung von FE_{NO} über dem Mund bei verschlossener Nase und Einatmung von Raumluft

Ein weiteres Ziel dieser Studie war es festzustellen, ob und wann Säuglinge als obligate Nasenatmer eine FE_{NO} -Messung bei Okklusion der Nase tolerieren. Diese Messung war nur bei drei von 29 schlafenden Säuglingen möglich, wobei nur bei einem Probanden drei auswertbare Messungen durchgeführt werden konnten. Bei den übrigen Messungen konnten nach Okklusion der Nasenlöcher keine oder nur sehr geringe Atemzüge registriert werden, weshalb jene Messungen nach 20 bis 25 Sekunden abgebrochen werden mussten. Erwachen und Schreien führte ebenfalls zum Abbruch der Messung.

Insgesamt wurde demnach die nasale Messung von den Säuglingen am ehesten toleriert und war am besten durchzuführen und auszuwerten, die NO -Messung bei Okklusion der Nase war hingegen am wenigsten praktikabel.

4 DISKUSSION

4.1 In dieser Studie evaluierte Methoden der expiratorischen NO-Messung im Säuglingsalter und ihre Störfaktoren

Expiratorisches Stickstoffmonoxid (FE_{NO}) gilt als Marker von Entzündungsprozessen der unteren Atemwege bei Kindern und Erwachsenen. Die Messung von FE_{NO} ist im Rahmen der Diagnostik und Verlaufsbeurteilung entzündlicher Atemwegserkrankungen, wie dem Asthma bronchiale, sinnvoll einzusetzen (Kharitonov et al., 1996, A; Smith et al., 2005). Es gibt auch Hinweise darauf, dass die Messung von FE_{NO} bereits im Säuglingsalter als Marker von Entzündungsprozessen anwendbar ist (Leipala et al., 2004). Allerdings sind die verschiedenen Einflussfaktoren auf die NO-Messungen in dieser Altersgruppe nicht ausreichend untersucht, so dass, anders als bei Kindern und Erwachsenen, keine allgemein gültigen Empfehlungen zur FE_{NO} -Messung in dieser Altersgruppe vorliegen.

Zu den bekannten Einflussfaktoren, die auf das FE_{NO} einwirken, zählen die Beimischung von NO aus den oberen Atemwegen, die Variabilität des expiratorischen Atemflusses und die Raumluft-NO-Konzentration. Bei kooperativen Kindern und Erwachsenen können diese Einflüsse durch Anwendung standardisierter Verfahren weitestgehend minimiert werden. Die European Respiratory Society (ERS) und die American Thoracic Society (ATS) haben hierzu Empfehlungen veröffentlicht, die in der Einleitung bereits ausführlich beschrieben worden sind (ATS, 1999; ERS/ATS, 2002; ATS/ERS, 2005). Die Durchführung des Goldstandards, der „single-breath“-Methode mit langer Ausatmung gegen einen Widerstand bei konstantem expiratorischem Atemfluss, ist aufgrund fehlender aktiver Kooperation bei Säuglingen nicht umzusetzen.

In dieser Studie wurde der Einfluss der bekannten Störfaktoren bei Säuglingen untersucht. Dazu wurden vier verschiedene Methoden zur NO-Messung in der Ausatemluft von Säuglingen miteinander verglichen. Alle vier Messungen wurden bei ruhiger Spontanatmung der Säuglinge durchgeführt: eine Messung mit Hilfe einer Gesichtsmaske über Mund und Nase, mit und ohne Einatmung von NO-freier Luft, eine Messung über eine Mundmaske

bei Okklusion der Nase, und eine nasale NO-Messung mit Hilfe einer Kunststoffolive, jeweils im rechten und im linken Nasenloch.

4.2 Ergebnisse dieser Studie

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, dass (1) die Messung des nasalen NO überwiegend unproblematisch durchzuführen ist und dass nasales NO in wesentlich höheren Konzentrationen als gemischt-expiratorisches NO aus oberen und unteren Atemwegen zu messen ist. (2) Da bei der Mehrzahl der Säuglinge eine NO-Messung über dem Mund bei Okklusion der Nase nicht toleriert wurde, ist eine Trennung von NO der oberen und unteren Atemwege in dieser Altersgruppe nicht möglich. Somit ist der Einfluss von NO aus den oberen Atemwegen nicht zu verhindern. (3) Raumluft-NO hat einen signifikanten Einfluss auf das FE_{NO} . Dieser Effekt kann auch durch die Einatmung NO-freier Luft nicht verhindert, jedoch deutlich vermindert werden. (4) Die NO-Messung mit Hilfe einer Maske über Mund und Nase bei Einatmung NO-freier Luft scheint zwar von den evaluierten Methoden die am ehesten geeignete zu sein, gemischt-expiratorisches NO zu bestimmen. Doch aufgrund der weiterhin unvermeidbaren Störfaktoren „nasales NO“ und „Atemfluss“ ist auch mit dieser Messmethode keine genaue Messung der NO-Konzentrationen in den unteren Atemwegen des Säuglings möglich.

4.3 Messbarkeit der Raumluft-NO-Konzentration und ihr Einfluss auf das FE_{NO} von Säuglingen

Zu Beginn dieser Studie gab es noch keine veröffentlichte Untersuchung, die den Einfluss von Raum-NO auf FE_{NO} im Säuglingsalter während ruhiger Spontanatmung untersucht hat. Zwar findet man darüber in der Literatur Untersuchungen bei Erwachsenen oder älteren Kindern, doch deren Ergebnisse sind wegen der Verwendung anderer Methoden („single-breath“-Messung) nicht auf die Säuglings-Messungen bei ruhiger Spontanatmung übertragbar. In dieser Studie konnten wir eine signifikante positive Korrelation zwischen der Raumluft-NO-Konzentration und des FE_{NO} feststellen. Das heißt, im Vergleich der expiratorischen NO-Werte verschiedener Säuglinge fielen ansteigende FE_{NO} -Werte bei

ansteigenden Raum-NO-Konzentrationen auf. Diesen Einfluss des Raum-NO konnten wir insbesondere durch mehrere Messungen, bei Einatmung von Raumluft versus NO-freier Luft, bei jeweils demselben Patienten bestätigen.

Inzwischen wurde eine Studie von Franklin et al. (2004) publiziert, die sich ebenfalls bei Säuglingen mit genannter Fragestellung beschäftigt hat. Bei Säuglingen und Kindern im Alter von fünf bis 100 Wochen wurde NO auch während ruhiger Spontanatmung („tidal-breathing“-Methode) über eine Maske gemessen, die Mund und Nase umfasste. Franklin et al. (2004) konnten ebenso eine Reduktion der FE_{NO} -Werte bei Einatmung NO-freier Luft versus Raumluft feststellen (im Mittel 12,6 ppb FE_{NO} versus 15,4 ppb). Unsere Studie zeigt, dass relevante Unterschiede des FE_{NO} bereits ab sehr niedrigen Raum-NO-Konzentrationen vorhanden sind. In Abbildung 7 und 8 (siehe Kapitel 3) erkennt man deutliche NO-Differenzen in der Ausatemluft schon ab 3 ppb Raum-NO. Dieses Ergebnis bestätigt das der Arbeitsgruppe von Franklin et al. (2004), welche Einflüsse des Raum-NO ab 5 ppb feststellen konnte.

Ein Einfluss der Raumluft-NO-Konzentration auf das FE_{NO} konnte in unserer Studie nicht nur bei Einatmung von Raumluft, sondern auch bei Einatmung NO-freier Luft nachgewiesen werden, wenn auch in geringerem Maße. Eine denkbare Erklärung hierfür ist, dass zuvor eingeatmetes NO noch nicht ganz aus den Atemwegen ausgeatmet wurde. Zwar wurde bei allen Messungen streng darauf geachtet, dass dem auswertbaren Zeitabschnitt eine Phase vorausging, in der über mindestens zehn Atemzüge NO-freie Luft eingeatmet wurde, doch gegebenenfalls sind hierfür mehr Atemzüge notwendig. Möglich ist auch, dass unser Versuchsaufbau in geringem Maße für NO durchlässig war, zum Beispiel über ein Durchdringen von NO durch Schlauchmaterial oder Maske.

Es lässt sich jedoch festhalten, dass der Effekt der Raumluft auf die FE_{NO} -Messung durch Einatmung NO-freier Luft deutlich vermindert werden kann. Alternativ könnte eine NO-freie Kammer verwendet werden, wie beispielsweise ein Ganzkörperplethysmograph, in den durch ein Filtersystem NO-freie Luft eingebracht wird.

4.4 Kontamination des F_{ENO} von Säuglingen durch nasales NO

Bei der nasalen Messung mittels Kunststoffolive wurden bei allen Säuglingen erheblich höhere NO-Konzentrationen gegenüber den gemischt-expiratorischen NO-Werten gemessen. Dieses Ergebnis stimmt mit den Angaben in der Literatur überein sowie mit einer früheren Studie unserer Klinik (Ratjen et al., 2000). Der NO-Mittelwert für die gemischt-expiratorische Luft (Maske über Mund und Nase) lag in unserer Studie bei $10,1 \pm 6,9$ ppb, wohingegen der Mittelwert des nasalen NO (rechtes Nasenloch) $212,3 \pm 170,4$ ppb betrug. In der Literatur findet man weitere Angaben, die ebenfalls zeigen, dass ein beträchtlicher Anteil des in der Ausatemluft nachgewiesenen NO aus den oberen Atemwegen stammt, insbesondere aus den Nasennebenhöhlen (Lundberg et al., 1995). Bei reifen Neugeborenen sind allerdings erst die Nasennebenhöhlen der Ethmoidalregion zum Zeitpunkt der Geburt entwickelt, die anderen nur inkomplett pneumatisiert. Man könnte deshalb vermuten, dass die nasalen NO-Werte bei Säuglingen vermindert sind. Dennoch konnten hohen nasalen NO-Konzentrationen schon kurz nach der Geburt registriert werden, so dass es unwahrscheinlich erscheint, dass die Nasennebenhöhlen der einzige Ort der NO-Produktion der oberen Atemwege sind (Schedin et al., 1996).

Wenn man NO als Marker einer Inflammation der unteren Atemwege benutzen möchte, ist es wichtig, den Einfluss des NO aus den oberen Atemwegen zu minimieren. Die Kontamination durch nasales NO ließe sich durch Ausatmung über den Mund gegen einen Widerstand vermindern, da ein positiver Druck von 4 cm H₂O die unteren Atemwege durch Anlegen des Gaumensegels an die Rachenhinterwand vom Nasenrachenraum verschließt (Silkoff et al., 1997; ERS/ATS Statement, 2002). Wir konnten in dieser Studie zeigen, dass bei Säuglingen eine nasale NO-Kontamination nicht zu verhindern ist, da bei der Mehrzahl der Patienten dieser Altersgruppe eine NO-Messung über dem Mund bei Okklusion der Nase nicht möglich war. Die Mundatmung ist nur bei 3 von 29 Säuglingen gelungen bzw. bei nur einem waren drei vollständige Messungen möglich, die zur Auswertung hätten herangezogen werden können. Bei den übrigen Messungen konnten nach Okklusion der Nasenlöcher keine oder nur sehr geringe Atemzüge registriert werden oder aber das Kind erwachte und schrie. Man kann nun argumentieren, dass dieser Einfluss des in den oberen Atemwegen gebildeten NOs bei unserer Maskenmessung völlig unberücksichtigt blieb. Bei ruhiger Atmung ohne Expiration gegen einen Widerstand ist

eine Kontamination mit nasalem NO nicht zu vermeiden und die gemessenen NO-Werte sind eher als gemischtes NO, also NO aus den unteren und oberen Atemwegen, anzusehen.

Unser Ergebnis steht im Gegensatz zu Studien von Baraldi et al. (1999, B) und Franklin et al. (2004). Diesen Autoren gelang es, NO bei Säuglingen über eine Mundmaske bei gleichzeitiger Okklusion der Nase zu messen. Baraldi et al. (1999, B) haben FE_{NO} bei 30 kleinen Kindern mit obstruktiver Bronchitis mit Hilfe der „tidal-breathing“-Methode gemessen. Durch die Mundatmung bei verschlossener Nase konnte ein expiratorischer Widerstand von 2 cm H₂O aufgebaut werden. Es wird von keinerlei Problemen bezüglich der Durchführung dieser Methode gesprochen. Eine Erklärung für diese diskrepanten Ergebnisse könnte in dem Alter der Probanden liegen. In unserer Studie wurden ausschließlich Kinder innerhalb ihres ersten Lebensjahres untersucht (das älteste Kind war neun Monate alt), wohingegen Baraldi et al. (1999, B) Kinder im Alter von vier bis zu 38 Monaten untersuchten. Dies lässt vermuten, dass mit steigendem Lebensalter die Wahrscheinlichkeit steigt, diese Methode bei verschlossener Nase durchführen zu können. Der Altersdurchschnitt der Patienten der Arbeitsgruppe von Franklin et al. (2004) lag mit 49 Wochen ebenfalls über dem unserer Probanden (acht Wochen). Allerdings wurden auch Säuglinge ab der fünften Lebenswoche erfolgreich in die Studie mitaufgenommen. Im Gegensatz zu unseren Untersuchungen, bei denen NO bei spontan schlafenden Säuglingen gemessen wurde, sedierten Franklin und seine Mitarbeiter jedoch ihre Probanden mit Chloralhydrat. Es ist sehr wahrscheinlich, dass durch die Sedierung die Okklusion der Nase von Säuglingen besser toleriert und damit die Mundatmung ohne vorzeitiges Erwachen möglich wird. Franklin et al. (2004) erwähnen allerdings auch, dass es oft schwierig war, selbst Säuglinge unter Sedierung dazu zu bringen, durch den Mund zu atmen.

In diesem Zusammenhang ist es interessant zu erwähnen, dass es Säuglingen prinzipiell möglich ist, durch den Mund zu atmen, entgegen der verbreiteten Annahme, Säuglinge seien obligate Nasenatmer. Rodenstein et al. (1985) beobachteten hierzu 19 Säuglinge im Alter von ein bis 230 Tagen, denen durch die Fingerspitzen des Untersuchers die Nasenlöcher verschlossen wurden. Nach zunächst einigen frustrierten Atemzügen, löste sich bei allen Kindern der Zungengrund vom weichen Gaumensegel, was durch simultane Durchleuchtung (Fluoroskopie) der Atemwege nachgewiesen wurde. Die einsetzende

Mundatmung wurde durch eine CO₂-Messung dokumentiert, welche über einen, zwischen den Lippen des Säuglings platzierten, gefensterten Plastikschauch erfolgte. Ein wesentliches Ergebnis dieser Untersuchung lag darin, dass die Zeit von dem Verschluss der Nasenlöcher bis hin zum Einsetzen der Mundatmung abhängig vom Alter und Bewusstseinszustand war (0,6 bis 32 Sekunden). Älteren und/oder wachen Säuglingen gelang es schneller, von Nasen- auf Mundatmung zu wechseln, als dies jüngeren und/oder schlafenden Kindern möglich war. Diese Entdeckung erklärt vielleicht, weshalb es uns nur bei drei von 29 jüngeren und schlafenden Säuglingen gelungen ist, Atemzüge über dem Mund bei verschlossener Nase zu registrieren, da die von uns untersuchten Patienten deutlich jünger waren als die von Baraldi et al. (1999, B). Schreiende Säuglinge wurden in der Untersuchung von Rodenstein et al. (1985) ebenfalls als erfolgreiche Mundatmer aufgenommen. In unserer Studie führte das Erwachen und Schreien des Säuglings jedoch zum Abbruch bzw. Unterbrechung der Messung, da zur Auswertung des expiratorischen Stickstoffmonoxids ruhige, gleichmäßige Atemzüge nötig sind. Somit reicht es nicht aus, die Säuglinge zu einer Mundatmung zu bringen, sondern diese muss zudem adäquat sein, das heißt ohne abwehrende Kopfbewegungen, die ein dichtes Aufsetzen der Maske erschweren, und mit gleichmäßigen ruhigen Atemzügen, die einen ausreichend großen Atemfluss messbar machen. Zudem muss die Mundatmung lang genug dauern, um eine auswertbare F_{E_{NO}}-Messung zu gewährleisten. Cozzi et al. (2002) stellten zwar fest, dass die Mundatmung nach akuter nasaler Okklusion sogar bei einem Großteil von Neugeborenen möglich ist (zwei bis fünf Tage alt), jedoch resultierte aus einem prolongierten Verschluss der Nase von 90 Sekunden oft eine Obstruktion des oralen Atemweges.

Franklin et al. konnten in ihrer Studie aus dem Jahre 2004 interessanter Weise zeigen, dass bei der „tidal-breathing“-Messung die Kontamination durch nasales NO durch Mundatmung nicht vermindert wurde (Franklin et al., 2004). Sie stellten an Säuglingen fest, dass die gemessenen NO-Konzentrationen während Mund- oder Nasenatmung keinen signifikanten Unterschied aufwiesen. Durch beide Messmethoden wird vermutlich gemischt-expiratorische Luft gemessen (aus den oberen und unteren Atemwegen). Eine mögliche Erklärung dafür könnte sein, dass die Ausatemphase während einer ruhigen Spontanatmung zu kurz ist, um das autoinhalierete NO aus den oberen Atemwegen zu eliminieren. Die Expiration bei der „single-breath“-Technik sollte laut den Empfehlungen der American Thoracic Society (1999; 2005) bei Erwachsenen mindestens sechs bzw. bei

Kindern unter zwölf Jahren mindestens vier Sekunden dauern, um ein auswertbares NO-Plateau zu erhalten. Die Expirationsdauer eines Säuglings während ruhiger Spontanatmung liegt deutlich unter dieser Zeit, nämlich unter einer Sekunde (Hall et al., 2002). Somit verbleibt bei der „tidal-breathing“-Messung noch genügend, aus den oberen Atemwegen stammendes NO, um das FE_{NO} zu beeinflussen.

4.5 Alternative NO-Messmethoden zur Vermeidung von Störfaktoren

Eine alternative Messmethode zur Verminderung des Einflusses von nasalem NO stellten Artlich et al. (1999) vor. Die Arbeitsgruppe legte bei Kindern im Alter von durchschnittlich acht Jahren einen kontinuierlichen nasalen Sog an, um nasale Luft zu entfernen, während die orale Ausatemluft gemessen wurde. Uns ist keine Studie bekannt, die eine ähnliche Methode bei Säuglingen getestet hat. Jedoch würde ohnehin die NO-Messung der oralen Ausatemluft innerhalb der ersten zwölf Lebensmonate aufgrund der vorwiegenden Nasenatmung nur sehr schwer durchzuführen sein.

Eine weitere Alternative für die Säuglings-NO-Messung stellt die von Wildhaber et al. (1999) während einer extrathorakalen Kompression durchgeführte Messung dar. Bei dieser Methode wird eine schnelle Kompression des Thorax durch eine mit Luft füllbare Jacke erreicht. Die forcierte passive Ausatmung erfolgte über eine Gesichtsmaske gegen einen Widerstand, durch den ein konstanter expiratorischer Fluss von 50 ml pro Sekunde erreicht werden kann. Diese Methode erfüllt jedoch durch die Notwendigkeit einer Sedierung nicht das Kriterium eines nicht-invasiven Messverfahrens. Allerdings wird die Thoraxkompression in einigen Zentren als Routinemethode zur Lungenfunktionsmessung durchgeführt. Wenn die FE_{NO} -Messung im Rahmen dieser Diagnostik stattfinden würde, wäre keine zusätzliche Sedierung nötig. Fraglich bleibt jedoch, ob durch die beschriebene schnelle Thorax-Kompression ein NO-Plateau erzeugt wird, das ausreichend lang ist, um es auswerten zu können. Aus der Veröffentlichung von Wildhaber et al. (1999) ist nämlich eine Expirationsdauer von unter zwei Sekunden ersichtlich. Man könnte allerdings die Ausatemluft mehrerer Kompressionen in einem Reservoir zur anschließenden NO-offline-Messung sammeln. Ein weiterer Kritikpunkt an der Thoraxkompressions-Methode ist die mögliche Verunreinigung des gemessenen FE_{NO} durch NO aus dem Magen, da nicht nur der

Thorax, sondern auch das Abdomen komprimiert wird. Die intragastrale NO-Produktion beim Menschen und die Möglichkeit, dass durch die Regurgitation von gastralem NO intermittierend gemessene NO-Peaks in der Expiration erklärt werden könnten, wurde von Lundberg et al. (1994, A) beschrieben.

In unserer Studie war eine wesentliche Voraussetzung für einen erfolgreichen Messvorgang ein tiefer Schlaf der Säuglinge. Nur so wurde die Gesichtsmaske toleriert und nur so waren ruhige, regelmäßige Atemzüge gewährleistet. Je älter die Säuglinge waren, umso schwieriger war es, tiefe Schlafphasen der Kinder abzapfen. Dies benötigt ausreichend Zeit und Geduld, die einem im Klinikalltag selten zur Verfügung steht. Franklin et al. (2004) beschreiben dies ebenfalls als eines der Hauptprobleme bei der $F_{E_{NO}}$ -Messung. Ihnen war die Messung nur bei elf von 39 Säuglingen im Wachzustand möglich. Zur Erleichterung dieser Situation wurden die Kinder kurz vor der NO-Messung mit einer oralen Gabe Chloralhydrat sediert. Dies zog jedoch ein weiteres Problem nach sich. Es wurde nämlich ein signifikanter Unterschied des $F_{E_{NO}}$ der sedierten gegenüber den wachen Kindern festgestellt (14,6 ppb versus 21,4 ppb). Dadurch sind die Ergebnisse nicht mit anderen Studien vergleichbar, in denen die Kinder im Wachzustand oder während des physiologischen Schlafes untersucht wurden. Leider haben Franklin et al. (2004) nicht untersucht, ob ein solcher Unterschied auch zwischen sedierten und spontan schlafenden Kindern existiert. Wie diese erniedrigten $F_{E_{NO}}$ -Werte durch die Sedierung zustande kommen, ist unklar. Bereits Franklin et al. (2004) vermuteten u.a. eine Verunreinigung durch Raum-NO-Konzentrationen, da es im Wachzustand bei vermehrten Kopfbewegungen schwieriger ist, Kindern die Maske dicht auf das Gesicht zu halten. Eine weitere Ursache könnte in unterschiedlichen Atemmustern liegen. Nicht nur die durch solch eine Sedierung veränderten und damit nicht vergleichbaren $F_{E_{NO}}$ -Werte, sondern auch der Einsatz einer möglichst nicht-invasiven Messmethode spricht demzufolge für Messungen während natürlicher Schlafphasen, wie sie in unserer Studie durchgeführt wurden.

Neben den Störfaktoren „Raum-NO“ und „nasalem NO“ führen Schwankungen des expiratorischen Atemflusses zu unterschiedlichem $F_{E_{NO}}$. Es ist in der Literatur auch für Säuglinge beschrieben, dass die $F_{E_{NO}}$ -Werte bei sinkendem Fluss ansteigen (Franklin et al., 2004). Aus diesem Grund haben wir in unserer Studie parallel zu den NO-Konzentrationen die Atemflüsse aufgezeichnet (siehe Abb. 4, Kapitel 2). Es wurden nur die Abschnitte der

NO-Konzentrationen während gleichmäßiger Atemflüsse ausgewertet. Diese waren für die einzelnen Patienten gut reproduzierbar. Eine andere Möglichkeit zur Kontrolle der Atemflüsse bei Säuglingen stellt die bereits ausführlich beschriebene „single-breath“-Methode durch Thoraxkompression von Wildhaber et al. (1999) dar. Alternativ könnte man die Probanden während ruhiger Spontanatmung ohne Flussbegrenzung gegen einen Widerstand ausatmen lassen, wie in den ERS/ATS-Empfehlungen (2002) beschrieben. Dadurch wäre der Ausatemfluss zumindest etwas vermindert und damit dessen Schwankungen zwischen verschiedenen Probanden etwas eingeschränkt. Vorteilig ist die mögliche Durchführbarkeit im Neugeborenen und Säuglingsalter, nachteilig die unberücksichtigte nasale Kontamination.

Um den Einfluss des Atemflusses zu minimieren, schlugen Hall et al. (2002) eine andere Darstellungsform des expiratorischen NOs vor. Diese Arbeitsgruppe vermutete, dass die NO-Ausscheidung (\dot{V}_{NO}), als Produkt der NO-Konzentration (FE_{NO}) und des Atemflusses (\dot{V}), möglicherweise eine eher geeignete Darstellung der NO-Messung ist ($\dot{V}_{NO} \text{ nl/s} = FE_{NO} \text{ ppb} \times \dot{V} \text{ ml/s}$). Allerdings erbrachte diese Darstellung keine abweichenden Ergebnisse. Es konnte durch beide Darstellungsweisen ein Unterschied zwischen Patienten mit und ohne pränataler Zigarettenrauch-Exposition festgestellt werden. Säuglinge von Müttern, die in der Schwangerschaft geraucht haben, hatten sowohl signifikant niedrigere FE_{NO} - als auch \dot{V}_{NO} -Werte. Auch in der Studie von Franklin et al. (2004) lieferte die \dot{V}_{NO} -Darstellung im Vergleich verschiedener Patientengruppen keine anderen Ergebnisse als die herkömmliche FE_{NO} -Messung. Allerdings könnte die \dot{V}_{NO} -Darstellung der expiratorischen NO-Konzentration bei Langzeitstudien hilfreich sein, bei denen sich der Atemfluss des Säuglings mit steigendem Alter verändert und somit nicht ohne weiteres mit Ausgangswerten verglichen werden kann.

4.6 Bedeutung und Einsatzmöglichkeiten der FE_{NO} -Messung im Säuglingsalter

Obwohl diese Studie zeigt, dass durch die angewandten Methoden bei Säuglingen keine genaue Aussage über das NO der unteren Atemwege getroffen werden kann, liegen bereits eine Reihe von Studien vor, die nahe legen, dass man auch mit Hilfe der gemischt-expiratorischen NO-Konzentrationen Unterschiede verschiedener Patienten-Gruppen feststellen kann. Wie in unserer Studie kamen dabei Messungen während ruhiger Spontanatmung über Mund und Nase zur Anwendung. So haben Elphik et al. (2001) bei im Durchschnitt 49 Tage alten Säuglingen mit cystischer Fibrose deutlich niedrigere NO-Werte gegenüber gesunden Säuglingen messen können. Hall et al. (2002) haben bei Säuglingen (im Alter von 25 bis 58 Tagen), deren Mütter in der Schwangerschaft geraucht haben, signifikant erniedrigte NO-Werte im Vergleich zur Kontrollgruppe festgestellt. Eine Studie von Leipala et al. (2004) zeigt, dass gemischt-expiratorisches NO von Säuglingen (36 bis 45 Wochen alt) mit bronchopulmonaler Dysplasie gegenüber dem expiratorischen NO von gesunden Säuglingen signifikant erhöht ist. Bereits bei Neugeborenen innerhalb ihrer ersten drei Lebensstage gibt es Hinweise auf erhöhtes FE_{NO} im Rahmen eines erhöhten perinatalen Infektionsrisikos. Figueras-Aloy et al. (2003) konnten mit Hilfe der „tidal-breathing“-Methode bei Neugeborenen mit Amnioninfektionssyndrom gegenüber gesunden Neugeborenen erhöhte expiratorische NO-Werte messen. Diese Ergebnisse weisen auf die Bedeutung von FE_{NO} als Marker von Entzündungsprozessen hin, bei denen andere laborchemische Nachweise noch fehlen (negatives CrP, negative Blutkultur).

Im Kindesalter hat sich die Messung von FE_{NO} zur Diagnose- und Therapiesteuerung des Asthma bronchiale bereits durchgesetzt (Malmberg et al., 2003; Lundberg et al., 1996, B; Bisgaard et al., 1999). Innerhalb des ersten Lebensjahres kann man noch keine Aussagen über das Bestehen eines Asthmas treffen. Möglich wäre es jedoch, gerade mit der „tidal-breathing“-Methode zur nicht-invasiven FE_{NO} -Messung die Diagnose dieser chronischen Atemwegserkrankung früher stellen zu können. In einer vorhergehenden Studie an unserem Institut wurde mit Hilfe dieser Methode gezeigt, dass Säuglinge mit erstmaliger obstruktiver Bronchitis niedrigere FE_{NO} -Werte aufweisen als gesunde Säuglinge (Ratjen et al., 2000). Im Gegensatz dazu haben andere Untersuchungen ergeben, dass NO-Konzentrationen in den Atemwegen von Kindern und Erwachsenen mit Asthma oder Luftwegsinfekten erhöht sind (Alving et al., 1993; Kharitonov et al., 1995, B). Dies könnte

darauf hindeuten, dass zwischen den genannten Patientengruppen unterschiedliche pathophysiologische Mechanismen bestehen. Diese Annahme unterstützt eine Studie von Baraldi et al. (1999, B), in der das $F_{E_{NO}}$ von Säuglingen mit erstmaliger obstruktiver Bronchitis signifikant niedriger waren als bei Säuglingen mit rezidivierenden obstruktiven Bronchitiden. Diese Ergebnisse lassen annehmen, dass man ggf. von der Höhe der $F_{E_{NO}}$ -Werte auf verschiedene Ursachen der Entzündung schließen kann. Niedrigere Werte könnten auf eine viral induzierte obstruktive Bronchitis hindeuten, wohingegen höhere NO -Konzentrationen auf eine eosinophile Infiltration im Rahmen von atopischen Erkrankungen hinweisen. Diese Informationen wären Patienten im Säuglingsalter hilfreich und ließen möglicherweise eine frühzeitige therapeutische Intervention zur Verbesserung der Langzeitprognosen zu.

Ein anderer Verwendungszweck der $F_{E_{NO}}$ -Messung im Säuglingsalter könnte in der Beurteilung der Effizienz einer therapeutischen Intervention bei rezidivierenden obstruktiven Bronchitiden liegen. Denn sowohl Leukotrienrezeptor-Antagonisten als auch inhalativ und oral applizierte Kortikosteroide senken $F_{E_{NO}}$ (Bisgaard et al., 1999; Baraldi et al., 1999, A). Letzteres konnten Baraldi et al. (1999, B) bereits für Säuglinge und Kleinkinder mit rezidivierenden obstruktiven Bronchitiden nachweisen. In ihrer Studie sanken die $F_{E_{NO}}$ -Werte dieser Patienten während einer akuten Episode nach nur fünf Tagen oraler Prednison-Therapie von im Durchschnitt 14,1 ppb auf 5,9 ppb. Die $F_{E_{NO}}$ -Werte nach vierwöchiger Therapie waren mit denen der gesunden Kontrollgruppe vergleichbar. Somit könnte bei Säuglingen ggf. auch die Anwendung der häuslichen Inhalation mit Kortikosteroiden durch die Eltern besser überwacht werden.

4.7 Fazit

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass wir mehrere Methoden zur Messung von expiratorischem NO bei spontan schlafenden Säuglingen getestet und miteinander verglichen haben. Hierbei konnte ein deutlicher Einfluss der Raum-NO-Konzentration auf die NO-Konzentration in der Ausatemluft (FE_{NO}) schon ab 3 ppb Raum-NO nachgewiesen werden. Deshalb sollte vor jeder Messung die Höhe des Raum-NO bestimmt und dessen Einfluss ggf. durch Einatmung NO-freier Luft minimiert werden. Außerdem konnten wir zeigen, dass es sehr schwierig ist, Säuglinge, die vorwiegend durch die Nase atmen, innerhalb ihrer ersten Lebensmonate durch eine akute Okklusion der Nase zur Mundatmung zu bewegen. Im Gegensatz zur „single-breath“-Methode, wie sie bei älteren Kindern und Erwachsenen zur Anwendung kommt, können daher eine Kontamination durch NO aus den oberen Atemwegen sowie Schwankungen der Atemflüsse in dieser Altersgruppe nicht vermieden werden. Von den hier untersuchten vier Methoden zur Messung von FE_{NO} eignet sich die Methode am besten, bei der NO-freie Luft eingeatmet und die Ausatemluft über eine Mund und Nase bedeckende Maske gesammelt wird. Inwieweit die so gemessenen gemischt-expiratorischen NO-Werte in Klinik und Praxis von diagnostischem oder therapeutischem Wert sind, müssen weitere Untersuchungen noch zeigen.

5 ZUSAMMENFASSUNG

In dieser Arbeit wurden vier verschiedene Methoden zur Messung von Stickstoffmonoxid in der Ausatemluft (FE_{NO}) von Säuglingen verglichen. Dazu wurden bei insgesamt 43 schlafenden, nicht sedierten Säuglingen folgende Messungen während ruhiger Spontanatmung durchgeführt: eine nasale NO-Messung mit Hilfe einer Kunststoffolive ($n^1 = 20$), jeweils im rechten und im linken Nasenloch, eine gemischt-expiratorische² NO-Messung mit Hilfe einer Maske über Mund und Nase bei Einatmung von Raumluft ($n = 33$) versus Einatmung NO-freier Luft ($n = 25$) und eine NO-Messung über eine Mundmaske bei Okklusion der Nase ($n = 29$). Die Ergebnisse dieser Studie zeigen, dass die nasale NO-Messung über eine Kunststoff-Olive bei Säuglingen relativ unproblematisch durchzuführen war. Hierbei wurden erheblich höhere NO-Konzentrationen als bei den gemischt-expiratorischen Messungen festgestellt. Die gemischt-expiratorischen Messungen waren signifikant von NO in der Einatemluft beeinflusst. Daher ist bei dieser Messung ab einer Raum-NO-Konzentration von 3 ppb eine Einatmung von NO-freier Luft notwendig. Erhebliche Schwierigkeiten bereitete es, Säuglinge, die vorwiegende Nasenatmer sind, durch eine Okklusion der Nase zur Mundatmung zu bringen. Demzufolge war eine Trennung von oberen und unteren Atemwegen nicht möglich und somit eine Kontamination des FE_{NO} durch nasales NO nicht zu verhindern. Die Messung von gemischt-expiratorischem NO bei Säuglingen mit Hilfe einer Maske über Mund und Nase bei Einatmung NO-freier Luft ist daher diejenige, die von den hier untersuchten vier nicht-invasiven Methoden am besten geeignet ist. Eine genaue Aussage über die NO-Konzentrationen der unteren Atemwege kann jedoch nicht getroffen werden. Da sich aber das FE_{NO} aus den unteren Atemwegen als Marker von Entzündungsprozessen in den Atemwegen erwiesen hat, müssen weitere Untersuchungen zeigen, inwieweit die gemischt-expiratorischen NO-Werte in der untersuchten Altersgruppe von diagnostischem Wert sind.

¹ n = Anzahl

² gemischt-expiratorisch = Ausatemluft aus den oberen und unteren Atemwegen

6 LITERATUR

1. Artlich, A., Busch, T., Lewandowski, K., Jonas, S., Gortner, L., Falke, K.J. (1999): Childhood asthma: exhaled nitric oxide in relation to clinical symptoms. *Eur. Respir. J.* 13, 1396-1401.
2. Asano, K., Chee, C.B.E., Gaston, B., Lilly, C.M., Gerard, C., Drazen, J.M., Stamler, J.S. (1994): Constitutive and inducible nitric oxide synthase gene expression, regulation, and activity in human lung epithelial cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91, 10089-10093.
3. ATS (American Thoracic Society) (1999): Recommendations for standardized procedures for the online and offline measurement of exhaled lower respiratory nitric oxide and nasal nitric oxide in adults and children. *Am. J. Respir. Care Med.* 160, 2104-2117.
4. ATS/ERS (2005): Recommendations for standardized procedures for the online and offline measurement of exhaled lower respiratory nitric oxide and nasal nitric oxide, 2005. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 171, 912-930.
5. Baraldi, E., Azzolin, N.M., Dario, C., Carra, S., Ongaro, R., Biban, P., Zacchello, F. (1998): Effect of atmospheric nitric oxide (NO) on measurements of exhaled NO in asthmatic children. *Ped. Pulmonol.* 26, 30-34.
6. Baraldi, E., Carra, C., Dario, N., Azzolin, R., Ongaro, G., Marcer, G., Zachello, F. (1999, A): Effect of natural grass pollen exposure on exhaled nitric oxide in asthmatic children. *Am. J. Resp. Crit. Care Med.* 159, 262-266.
7. Baraldi, E., Dario, C., Ongaro, R., Scollo, M., Azzolin, N.M., Panza, N., Paganini, N., Zachello, F. (1999, B): Exhaled nitric oxide concentrations during treatment of wheezing exacerbation in infants and young children. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 159, 1284-1288.
8. Baraldi, E., Scollo, M., Zaramella, C., Zanconato, S., Zacchello, F. (2000): A simple flow-driven method for online measurement of exhaled NO starting at the age of 4 to 5 years. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 162, 1828-1832.
9. Barnes, P.J., Belvisi, M.G. (1993): Nitric oxide and lung disease. *Thorax* 48, 1034-1043.

10. Belvisi, M.G., Ward, J.K., Mitchell, A., Barnes, P.J. (1995): Nitric oxide as a neurotransmitter in human airways. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* 329, 97-110.
11. Bisgaard H, Loland L, Oj J. (1999): NO in exhaled air of asthmatic children is reduced by the leukotriene receptor antagonist montelukast. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 160, 1227-1231.
12. Bland, J.M., Altman, D.G. (1986): Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet.* I, 307-309.
13. Buchvald, F., Bisgaard, H. (2001): FE_{NO} measured at fixed exhalation flow rate during controlled tidal breathing in children from age of 2 years. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 163, 699-704.
14. Colnaghi, M., Condo, V., Pagni, L., Furmagalli, M., Mosca, F. (2003): Endogeneous nitric oxide in the airways of preterm and term infants. *Biol. Neonate* 83, 113-116.
15. Covar, R.A., Szeffler, S.J., Martin, R.J., Sundstrom, D.A., Silkhoff, P.E., Murphy, J., Young, D.A., Spahn, J.D. (2003): Relations between exhaled nitric oxide and measures of disease activity among children with mild-to-moderate asthma. *J. Pediatr.* 142, 469-475.
16. Cozzi, F., Morini, F., Tozzi, C., Bonci, E., Cozzi, D.A. (2002): Effect of pacifier use on oral breathing in healthy newborn infants. *Pediatr. Pulmonol.* 33, 368-373.
17. de Gouw, H.W.F.M., Grünberg, K., Schot, R., Kroes, A.C.M., Dick, E.C., Sterk, P.J. (1998): Relationship between exhaled nitric oxide and airways hyper-responsiveness following experimental rhinovirus infection in asthmatic subjects. *Eur. Respir. J.* 11, 126-132.
18. Dötsch, J., Demiracka, S., Terbrack, H.G., Hüls, G., Rascher, W., Köhl, P.G. (1996): Airway nitric oxide in asthmatic children and patients with cystic fibrosis. *Eur. Respir. J.* 9, 2537-2540.
19. Dupont, L.J., Demedts, M.G., Verleden, G.M. (2003): Prospective evaluation of the validity of exhaled nitric oxide for the diagnosis of asthma. *Chest* 123, 751-756.
20. Elphick, H.E., Demoncheaux, E.A.G., Ritsou, S., Higgenbottam, T.W., Everad, M.L. (2001): Exhaled nitric oxide is reduced in infants with cystic fibrosis. *Thorax* 56, 151-152.

21. ERS/ATS Statement, (Baraldi, E. and de Jongste, J.C. on behalf of the Task Force) (2002): Measurement of exhaled nitric oxide in children, 2001. *Eur. Respir. J.* 20, 223-237.
22. Feldmann, P.L., Griffith O.W., Stuehr, D.J. (1993): The surprising life of nitric oxide. *Chem. Engin. News* Dec., 26-38.
23. Figueras-Aloy, J., Jordin, Y., Rodríguez-Miguel, J.M., Jimenez, W., Botet, F., Carbonell, X., Jimenez, R. (2003): Expired nitric oxide in the newborn with high risk of perinatal infection. *Am. J. Perinatol.* 20, 137-45.
24. Fioretto, J.R. (2003): Inhaled nitric oxide in pediatrics. *J. Pediatr. (Rio J.)* 79, Suppl 2, S 177-186.
25. Fisher, J.T., Anderson, J.W., Waldron, M.A. (1993): Nonadrenergic noncholinergic neurotransmitter of feline trachea VIP or nitric oxide. *J. Appl. Physiol.* 74, 31-39.
26. Franklin, P.J., Taplin, R., Stick, S.M. (1999): A community study of exhaled nitric oxide in healthy children. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 159, 69-73.
27. Franklin, P.J., Turner, S.W., Mutch, R.C., Stick, S.M. (2004): Measuring exhaled nitric oxide in infants during tidal breathing: methodological issues. *Pediatr. Pulmonol.* 37, 24-30.
28. Frostell, C., Fratacci, M.D., Wain, J.C., Jones, R., Zapol, W.M. (1991): Inhaled nitric oxide: a selective pulmonary vasodilator reversing hypoxic pulmonary vasoconstriction. *Circulation* 83, 2038-2047.
29. Furukawa, K., Harrison, D.G., Saleh, D., Shennib, H., Chagnon, F.P., Giaid, A. (1996): Expression of nitric oxide synthase in the human nasal mucosa. *Am. Respir. Crit. Care Med.* 153, 847-850.
30. Gianetti, J., Bevilacqua, S., de Caterina, R. (2002): Inhaled nitric oxide: more than a selective pulmonary vasodilator. *Eur. J. Clin. Invest.* 32, 628-635.
31. Gow, A.J., Luchsinger, B.P., Pawloski, J.R., Singel, D.J., Stamler, J.S. (1994): The oxyhemoglobin reaction of nitric oxide. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 91, 8137-8141.
32. Grasemann, H., Ioannidis, I., de Groot, H., Ratjen, F. (1997, A): Metabolites of nitric oxide in the lower respiratory tract of children. *Eur. J. Pediatr.* 156, 575-578.
33. Grasemann, H., Michler, E., Wallot, M., Ratjen, F. (1997, B): Decreased concentrations of exhaled nitric oxide (NO) in patients with cystic fibrosis. *Ped. Pulmonol.* 24, 173-177.

34. Grasmann, H., Yandava, C.N., Drazen, J.H. (1999, A): Neuronal NO synthase (NOS 1) is a major candidate gene for asthma. *Clin. Exp. Allergy* 29, Suppl 4, 39-41.
35. Grasmann, H., Gärtig, S.S., Wiesemann, H.G., Teschler, H., Konietzko, N., Ratjen, F. (1999, B): Effect of L-arginine infusion on airway NO in cystic fibrosis and primary ciliary dyskinesia syndrome. *Eur. Respir. J.* 13, 114-118.
36. Grasmann, H., Yandava, C.N., Storm van's Gravesande, K., Deykin, A., Pillari, A., Ma, J., Sonna, L.A., Lilly, C., Stampfer, M.J., Israel, E., Silverman, E.K., Drazen, J.M. (2000): A neuronal NO synthase (NOS1) gene polymorphism is associated with asthma. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 272, 391-394.
37. Grasmann, H., Grasmann, F., Kurtz, F., Tietze-Schillings, G., Vester, U., Ratjen, F. (2005): Oral L-arginine supplementation in cystic fibrosis patients: a placebo-controlled study. *Eur. Respir. J.* 25, 62-68.
38. Guo, F.H., de Raeve, H.R., Rice, T.W., Struehr, D.J., Thunnissen, F.B., Erzurum, S.C. (1995): Continuous nitric oxide synthesis by inducible nitric oxide synthase in normal airway epithelium in vivo. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 92, 7809-7813.
39. Gustafsson, L.E., Leone, A.M., Persson, M.G., Wiklund, N.P., Moncada, S. (1991): Endogenous nitric oxide is present in the exhaled air of rabbits, guinea-pigs and humans. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 181, 852-857.
40. Guzik, T.J., Korb, R., Adamek-Guzik, T. (2003): Nitric oxide and superoxide in inflammation and immune regulation. *J. Physiol. Pharmacol.* 54, 469-487.
41. Hall, G.L., Reinmann, B., Wildhaber, J.H., Frey, U. (2002): Tidal exhaled nitric oxide in healthy, unsedated newborn infants with prenatal tobacco exposure. *J. Appl. Physiol.* 92, 59-66.
42. Jobsis, Q., Schellekens, S.L., Kroesbergen, A., Hop, W.C.J., de Jongste, J.C. (1999): Sampling of exhaled nitric oxide in children: endexpiratory plateau, balloon and tidal breathing methods compared. *Eur. Respir. J.* 13, 1406-1410.
43. Kelley, T.J., Drumm, M.L. (1998): Inducible nitric oxide synthase expression is reduced in cystic fibrosis murine and human airway epithelial cells. *J. Clin. Invest.* 102, 1200-1207.
44. Kharitonov, S.A., Yates, S.A., Robbins, R.A., Logan Sinclair, R., Shinebourne, E.A., Barnes, P.J. (1994): Increased nitric oxide in exhaled air of asthmatic patients. *Lancet* 343, 133-135.

45. Kharitonov, S.A., Lubec, G., Lubec, B., Hjelm, M., Barnes, P.J. (1995, A): L-Arginine increases exhaled nitric oxide in normal human subjects. *Clin. Sci.* 88, 135-139.
46. Kharitonov, S.A., Yates, D., Barnes, J. (1995, B): Increased nitric oxide in exhaled air of normal human subjects with upper respiratory tract infections. *Eur. Respir. J.* 8, 295-297.
47. Kharitonov, S.A., Chung, F., Evans, D.J., O'Connor, B.J., Barnes, P.J. (1996, A): The elevated levels of exhaled nitric oxide in asthmatic patients is mainly derived from the lower respiratory tract. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 153, 1773-1780.
48. Kharitonov, S.A., Yates, D.H., Chung, K.F., Barnes, P.J. (1996, B): Changes in the dose of inhaled steroid affect exhaled nitric oxide levels in asthmatic patients. *Eur. Respir. J.* 9, 196-201.
49. Kharitonov, S.A., Alving, K., Barnes, P.J. (1997): Exhaled and nasal nitric oxide measurements: recommendations. ERS Task Force Report. *Eur. Respir. J.* 10, 1683-1693.
50. Kharitonov, S.A., Barnes, P.J. (2000): Clinical aspects of exhaled nitric oxide. *Eur. Respir. J.* 16, 781-792.
51. Kharitonov, S.A., Barnes, P.J. (2002): Biomarkers of some pulmonary diseases in exhaled breath. *Review. Biomarkers* 7, 1-32.
52. Kinsella, J.P., Neish, S.R., Shaffer, E., Abman, S.H. (1992): Low-dose inhalation nitric oxide in persistent pulmonary hypertension of the newborn. *Lancet* 340, 819-820.
53. Kisson, N., Duckworth, L.J., Blake, K.V., Murphey, S.P., Taylor, C.L., de Nicola, L.R., Silkoff, P.E. (2002): Exhaled nitric oxide concentrations: online versus offline in healthy children. *Ped. Pulmonol.* 33, 283-292.
54. Kourembanas, S., McQuillan, L.P., Leung, G.K., Faller, D.V. (1993): Nitric oxide regulates the expression of vasoconstrictors and growth factors by vascular endothelium under both normoxia and hypoxia. *J. Clin. Invest.* 92, 99-104.
55. Lane, C., Knight, D., Burgees, S., Franklin, P., Horak, F., Legg, J., Moeller, A., Stick, S (2004): Epithelial inducible nitric oxide synthase activity is the major determinant of nitric oxide concentration in exhaled breath. *Thorax* 59, 757-760.

56. Lindberg, S., Cervin, A., Runer, T. (1997): Low levels of nasal nitric oxide (NO) correlate to impaired mucociliary function in the upper airways. *Acta. Otolaryngol. (Stockh.)* 117, 728-734.
57. Linnane, S.J., Keatings, V.M., Costello, C.M., Moynihan, J.B., O'Connor, C.M., FitzGerald, M.X., McLoughlin, P. (1998): Total sputum nitrate plus nitrite is raised during acute pulmonary infection in cystic fibrosis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 158, 207-212.
58. Loveless, M.O., Phillips, C.R., Giraud, G.D., Holden, W.E. (1997): Decreased exhaled nitric oxide in subjects with HIV infection. *Thorax* 52, 185-186.
59. Lundberg, J.O.N., Weitzberg, E., Lundberg, J.M., Alving, K. (1994, A): Intra-gastric NO production in humans: measurements in expelled air. *Gut* 35, 1543-1546.
60. Lundberg, J.O.N., Weitzberg, E., Nordvall, S.L., Kuylenstierna, R., Lundberg, J.M., Alving, K. (1994, B): Primarily nasal origin of exhaled nitric oxide and absence in Kartagener's syndrome. *Eur. Respir. J.* 7, 1501-1504.
61. Lundberg, J.O.N., Farkas-Szallasi, T., Weitzberg, E., Rinder, J., Lindholm, J., Ånggard, A. (1995): High nitric oxide production in human paranasal sinuses. *Nature Med.* 1, 370-373.
62. Lundberg, J.O.N., Weitzberg, E., Lundberg, J.M., Alving, K. (1996, A): Nitric oxide in exhaled air. *Eur. Respir. J.* 9, 2671-2680.
63. Lundberg, J.O.N., Nordvall, S.L., Weitzberg, E., Kollberg, H., Alving, K. (1996, B): Exhaled nitric oxide in paediatric asthma and cystic fibrosis. *Arch. Dis. Child.* 75, 323-326.
64. Malmberg, L.P., Pelkonen, A.S., Haahtela, T., Turpeinen, M. (2003): Exhaled nitric oxide rather than lung function distinguishes preschool children with probable asthma. *Thorax* 58, 494-499.
65. Meng, Q.H., Springall, D.R., Bishop, A.E., Morgan, K., Evans, T.J., Habib, S., Gruenert, D.C., Gyi, K.M., Hodson, M.E., Yacoub, M.H., Polak, J.M. (1998): Lack of inducible nitric oxide synthase in bronchial epithelium: a possible mechanism of susceptibility to infection in cystic fibrosis. *J. Pathol.* 184, 323-331.
66. Michel, T.H., Feron, O. (1997): Nitric oxide synthases: which, where, how and why? Review. *J. Clin. Invest.* 100, 2146-2152.

67. Moncada, S., Higgs, A. (1993): The L-Arginin-nitric oxide pathway. *N. Engl. J. Med.* 329, 2002-2012.
68. Nathan, C., Xie, Q.W. (1994): Regulation of biosynthesis of nitric oxide. *J. Biol. Chem.* 269, 13725-13728.
69. Piacentini, G.L., Bodini, A., Vino, L., Zanolla, L., Costella, S., Vicentini, L., Boner, A.L. (1998): Influence of environmental concentrations of NO on the exhaled NO test. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 158, 1299-1301.
70. Pijnenburg, E.T., Lissenberg, E.T., Hofhuis, W., Ghirò, L., Hop, W.C.J., Holland, W.P., de Jongste, J.C. (2002): Exhaled nitric oxide measurements with dynamic flow restriction in children aged 4 - 8 years. *Eur. Respir. J.* 20, 919-924.
71. Ratjen, F., Kavuk, I., Gärtig, S., Wiesemann, H.G., Grasemann, H. (2000): Airway nitric oxide in infants with acute wheezy bronchitis. *Pediatr. Allergy Immunol.* 11, 230-235.
72. Robbins, R.A., Floreani, A.A., von Essen S.G., Sisson, J.H., Hill, M.E., Rubinstein, I., Townley, R.G. (1996): Measurements of exhaled nitric oxide by three different techniques. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 153, 1631-1635.
73. Roberts, J.D., Polaner, D.M., Lang, P., Zapol, W.M. (1992): Inhaled nitric oxide in persistent pulmonary hypertension of the newborn. *Lancet* 340, 818-819.
74. Rodenstein, O.D., Perlmutter, N., Stanescu, D.C. (1985): Infants are not obligatory nasal breathers. *Am. Rev. Respir. Dis.* 131, 343-347.
75. Rolla, G., Brussino, L., Bertero, M.T., Colagrande, P., Converso, M., Bucca, C., Polizzi, S., Caligaris-Cappio, F. (1997): Increased nitric oxide in exhaled air of patients with systemic lupus erythematosus. *J. Rheumatol.* 24, 1066-1071.
76. Sanna, A., Kurtansky, A., Veriter, C., Stranescu, D. (1994): Bronchodilator effect of inhaled nitric oxide in healthy men. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 150, 1702-1704.
77. Schedin, U., Norman, M., Gustaffson, L.E., Herin, P., Frostell, C. (1996): Endogenous nitric oxide in the upper airways of healthy newborn infants. *Ped. Res.* 40, 148-151.
78. Schedin, U., Norman, M., Gustaffson, L.E., Jonsson, B., Frostell, C. (1997): Endogenous nitric oxide in the upper airways of premature and term infants. *Acta. Pediatr.* 86, 1229-1235.

79. Shaul, P.W., North, A.J., Wu, L.C., Wells, L.B., Brannon, T.S., Lan, K.S., Michel, T., Margraf, L.R. (1994): Endothelial nitric oxide synthase is expressed in human bronchial epithelium. *J. Clin. Invest.* 94, 2231-2236.
80. Silkoff, P.E., McClean, P.A., Slutsky, A.S., Furlott, H.G., Hoffstein, E., Wakita, S., Chapman, K.R., Szalalai, J.P., Zamel, N. (1997): Marked flow-dependence of exhaled nitric oxide using a new technique to exclude nasal nitric oxide. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 155, 260-267.
81. Smith, A.D., Cowan, J.O., Brasset, K.P., Herbison, G.P., Taylor, D.R. (2005): Use of exhaled nitric oxide measurements to guide treatment in chronic asthma. *N. Engl. J. Med.* 352, 2163-2173.
82. Sodermann, C., Leone, A., Furst, V., Persson, M.G. (1997): Endogenous nitric oxide in exhaled air from patients with liver cirrhosis. *Scand. J. Gastroenterol.* 32, 591-597.
83. Straub, V., Ratjen, F., Amthor, H., Voit, T., Grasemann, H. (2002): Airway nitric oxide in Duchenne muscular dystrophy. *J. Pediatr.* 141, 132-134.
84. Therminarias, A.P., Flore, P., Favre-Juvin, A., Oddou, M.F., Delaire, M., Grimbert, F. (1998): Air contamination with nitric oxide: effects on exhaled nitric oxide response. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 157, 791-795.
85. Wang, T., El Kebir, D., Blaise, G. (2003): Inhaled nitric oxide in 2003: a review of its mechanisms of action. *Can. J. Anaesth.* 50, 839-846
86. Watkins, D.N., Peroni, D.J., Basclain, K.A., Garlepp, M.J., Thompson, P.J. (1997): Expression and activity of nitric oxide synthase in human airway epithelium. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 16, 629-639.
87. Wechsler, M.E., Graseman, H., Deykin, A., Silverman, E.K., Yandava, C.N., Israel, E., Wand, M., Drazen, J.M. (2000): Exhaled nitric oxide in patients with asthma. Association with NOS 1 genotype. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 162, 2043-2047.
88. Weiner, D.L., Hibberd, P.L., Betit, P., Cooper, A.B., Botelho, C.A., Brugnara, C. (2003): Preliminary assessment of inhaled nitric oxide for acute vaso-occlusive crises in pediatric patients with sickle cell disease. *JAMA.* 289, 1136-1142.
89. Wildhaber, J.H., Hall, G.L., Stick, S.M. (1999): Measurement of exhaled nitric oxide with the single-breath technique and positive expiratory pressure in infants. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 159, 74-78.

7 ANHANG

7.1 Tabellen

**Tabelle 3:
Diagnosen der Säuglinge**

Patient	Geschlecht	Alter (in Tagen)	Diagnose(n)
1	m	227	-Pseudomonas-Pyelonephritis -dysplastische Nieren, -Megaureteren bds., rechts VRR 5°, -Niereninsuffizienz -Chromosom 5-Veränderung -ehemaliges FG 28.SSW
2	m	2	-FG 36. SSW -respiratorische Anpassungsstörung -V.a. AIS
3	m	5	-respiratorische Anpassungsstörung -Erbrechen -Sektio (Beckenendlage u. HELLP-Syndrom)
4	m	13	-FG 35.SSW
5	m	13	-FG 35.SSW, Zwilling I
6	m	24	-Nierenerweiterung links -Megaureteren
7	m	24	-FG 32.SSW -V.a. AIS
8	w	53	-FG 29. SSW -Sektio bei Oligo-/Anhydramnion -V.a. AIS -respiratorische Anpassungsstörung
9	w	149	-kongenitaler Katarakt -VSD
10	w	59	-Kind einer Methadon behandelten Mutter -Klumpfuß rechts

Patient	Geschlecht	Alter (in Tagen)	Diagnose(n)
11	m	103	-Megaureter-Megazystitis-Syndrom
12	m	142	-Stomaanlage bei Doppelnieren rechts -Megaureter rechts -Z.n. Ureterozelenschlitzung
13	m	7	-Megaureteren -Hydronephrose
14	m	3	-FG 34.SSW -V.a. AIS
15	m	6	-AIS -transiente Hypoglycämie
16	w	11	-Temperaturabfall unklarer Genese -FG 35.SSW -postpartale kardiopulmonale Adaptionsstörung
17	m	12	-V.a. AIS
18	m	65	-Einstellung auf Monoembolie s.c. -Z.n. Thrombose der Vena cava inf. nach Femoraliskatheter -V.a. Kardiomyopathie -Z.n. fehlender Perfusion der rechten Niere -Z.n. Sepsis ohne Erregernachweis -Z.n. Vorderkammerblutung beider Augen
19	m	16	-Ikterus
20	m	26	-neonatales Drogenentzugssyndrom -VSD mit Shunt
21	m	85	-FG 34.SSW -Stenose der Urethra -Urethralklappen, Megaureter -Nierendysplasie -Störung des Natriumgleichgewichtes -Hernia inguinalis
22	w	102	-Trinkschwäche -V.a. Fieberkrampf

Patient	Geschlecht	Alter (in Tagen)	Diagnose(n)
23	m	79	-Z.n. Mastoidektomie und Paukenröhrchen rechts -Z.n. RDS III° -ehemaliges FG 30.SSW
24	w	20	-neonatales Drogenentzugssyndrom
25	m	27	-V.a. Staphylodermie
26	w	9	-V.a. AIS
27	m	155	-psychomotorische Entwicklungsverzögerung -Mikrocephalie, Retrognathie, Mikrostomie -horizontaler Nystagmus -Hämangiom (Gesicht) -Nabelhernie -muskuläre Hypertonie der Extremitäten
28	m	1	-Neugeborenen-Exanthem -V.a. Staphylodermie
29	m	36	-Otitis media beidseits -V.a. Otitis media perforans -fiebrhafter Infekt der oberen Luftwege
30	m	156	-AIS -Makrosomie -respiratorische Anpassungsstörung
31	m	12	-FG 33.SSW -Trinkschwäche -Klumpfuß -AIS
32	w	112	-V.a. Fieberkrampf
33	w	261	-Gastroenteritis -Rhinitis -V.a. Pneumonie
34	w	52	-V.a. milden Aldosteronsynthese-Mangel -Dystrophie
35	m	138	-obstruktive Bronchitis -Rhinitis

Patient	Geschlecht	Alter (in Tagen)	Diagnose(n)
36	w	32	-V.a. Pneumonie -RSV
37	w	49	-obstruktive Bronchitis
38	m	100	-obstruktive Bronchitis -seröse Rhinitis
39	m	27	-FG 34.SSW -Kardiopulmonale Anpassungsstörung -Hyperbilirubinämie
40	m	45	-FG 32.SSW -Kardiopulmonale Anpassungsstörung -Z.n. Pneumothorax -idiopathisches Atemnotsyndrom II°
41	w	40	-FG 29.SSW, hypotroph -AIS -Apnoe-Bradykardie-Syndrom -Hyperbilirubinämie
42	w	3	-Kardiopulmonale Anpassungsstörung -Enährungsschwierigkeiten -Entzugssyndrom bei Methadon-Substitution der Mutter -Hyperbilirubinämie
43	m	15	-FG 33.SSW -V.a. AIS

AIS = Amnion-Infektions-Syndrom

FG = Frühgeborenes

VRR = Vesikoreneraler-Reflux

RDS = respiratory distress syndrome

RSV = Respiratory Syncytial Virus

V.a. = Verdacht auf

VUR = Vesikoureteraler Reflux

VSD = Ventrikelseptumdefekt

Z.n. = Zustand nach

Tabelle 4:
Vergleich des FE_{NO} bei Einatmung von Raumluft versus NO-freier Luft (bei NO-Messung durch eine Maske über Mund und Nase)

Patient	Raum-NO (ppb)	FE_{NO} (ppb) bei Einatmung von Raumluft	FE_{NO} (ppb) bei Einatmung von NO-freier Luft	FE_{NO} -Differenz
1	0	5,6	6,1	0,5
2	0,4	9,0	10,8	1,8
3	0,6	3,2	3,6	0,4
4	0,6	3,5	3,9	0,4
5	1,4	14,4	15,0	0,6
6	1,8	4,0	4,3	0,3
7	2,4	2,9	3,2	0,3
8	2,4	21,1	21,9	0,8
9	2,6	16,2	16,8	0,6
10	3,0	21,3	12,3	-9,0
11	4,6	6,5	2,9	-3,6
12	10,9	34,4	16,3	-18,1
13	17,0	17,6	10,4	-7,2
14	17,6	15,7	8,3	-7,4
15	19,5	22,1	5,9	-16,2
16	20,3	24,3	10,5	-13,8
17	20,8	25,0	20,6	-4,4
18	21,3	30,0	18,2	-11,8
19	21,6	20,0	10,0	-10,0
20	22,9	17,0	13,2	-3,8
21	27,0	32,1	16,7	-15,4
22	34,4	27,6	10,4	-17,2
23	41,3	49,2	33,4	-15,8
24	43,7	39,3	18,2	-21,1
M \pm SD	14,1 \pm 13,5	19,3 \pm 12,3	12,2 \pm 7,3	-7 \pm 7,5

M = Mittelwert, SD = Standardabweichung, FE_{NO} = expiratorisches NO

Die NO-Werte sind nach steigender Raumluft-NO-Konzentration geordnet.

Tabelle 5:
Vergleich nasaler, gemischt-expiratorischer-, sowie Raum-NO-Konzentrationen bei Säuglingen

Patient	NO in der rechten Nase (ppb)	NO in der linken Nase (ppb)	Gemischt-expiratorisches NO (ppb)	Raum-NO (ppb)
1	332	488	10,8	0,4
2	100	127	4,3	1,8
3	171	174	3,6	0,6
4	635	634	21,1	2,4
5	217	202	16,2	2,6
6	176	298	21,3	3,0
7	324	500	10,5	13,0
8	184	104	9,7	1,0
9	93	100	2,8	1,0
10	16	41	2,9	1,0
11	87	78	7,6	1,4
M ± SD	212,3 ± 170,4	249,6 ± 202,3	10,1 ± 6,9	2,6 ± 3,6

M = Mittelwert, SD = Standardabweichung

Nasale NO-Konzentrationen wurden mit Hilfe einer Kunststoff-Olive gemessen, gemischt-expiratorische NO-Konzentrationen mit Hilfe einer Maske über Mund und Nase. Die NO-Werte sind jeweils in part per billion angegeben (ppb).

Tabelle 6:
Nasale NO-Konzentrationen beider Nasenostien bei Säuglingen

Patient	NO-Konzentration in der rechten Nase (ppb)	NO-Konzentration in der linken Nase (ppb)	NO-Konzentration in der Raumluft (ppb)
1	332	488	0,4
2	100	127	1,8
3	171	174	0,6
4	635	634	2,4
5	217	202	2,6
6	449	390	3,2
7	176	298	3
8	249	229	0,8
9	236	223	4
10	86	101	0
11	324	500	13
12	184	104	1
13	93	100	1
14	16	41	1
15	87	78	1,4
16	315	231	0,8
M ± SD	229,4 ± 157,1	245,0 ± 173,6	

M = Mittelwert, SD = Standardabweichung

Bei zwei Kindern war die nasale Messung bei Rhinitis nicht möglich, bei weiteren zwei Kindern war die NO-Messung bei Vorhandensein einer Magensonde nur in einem Nasenloch möglich.

Tabelle 7:
FE_{NO} bei Einatmung von Raumluft (mit Hilfe einer Maske über Mund und Nase gemessen)

Patient	Raumluft- NO-Konzentration (ppb)	FE _{NO} (ppb)
1	0	2,5
2	0	5,6
3	0,4	9,0
4	0,6	3,2
5	0,6	3,5
6	1,0	2,3
7	1,0	2,8
8	1,0	2,9
9	1,0	9,7
10	1,4	7,6
11	1,4	14,4
12	1,6	5,6
13	1,8	4,0
14	2,4	21,1
15	2,6	16,2
16	2,9	2,4
17	3,0	21,3
18	4,6	6,5
19	10,9	34,4
20	13,0	10,5
21	17,0 *	17,6
22	17,6 *	15,7
23	19,5	22,1
24	20,3	24,3
25	20,8 *	25,0
26	21,3 *	30,0
27	21,6 *	20,0
28	22,9	17,0
29	27,0	32,1
30	34,4	27,6
31	41,3	49,2
32	43,7	39,3
M ± SD	11,2 ± 12,9	15,8 ± 12,3

* Bei diesen Patienten wurde die Inspirationsluft künstlich mit NO angereichert.

Auflistung der expiratorischen NO-Werte erfolgte nach steigender Raumluft-NO-Konzentration. Bei einem weiteren Kind konnten nach Aufsetzen der Maske keine Atemzüge mehr registriert werden, so dass die Untersuchung unterbrochen werden musste.

Tabelle 8:
F_{ENO} bei Einatmung NO-freier Luft (mit Hilfe einer Maske über Mund und Nase gemessen)

Patient	F _{ENO} (ppb)
1	6,1
2	10,8
3	3,6
4	3,9
5	15
6	4,3
7	3,2
8	21,9
9	16,8
10	12,3
11	2,9
12	16,3
13	10,4
14	8,3
15	5,9
16	10,5
17	20,6
18	18,2
19	10
20	13,2
21	16,7
22	10,4
23	33,4
24	18,2
M±SD	12,2 ± 7,3

M = Mittelwert, SD = Standardabweichung, F_{ENO} = expiratorisches NO

Bei einem Kind konnten nach Aufsetzen der Maske keine Atemzüge mehr registriert werden, so dass die Untersuchung unterbrochen werden musste.

7.2 Abkürzungen

Abb.	Abbildung
AIS	Amnion-Infektions-Syndrom
ARDS	acute respiratory distress syndrome
ATS	American Thoracic Society
BH ₄	Tetrahydrobiopterin
Ca ²⁺	Kalzium
CF	cystische Fibrose
cGMP	zyklisches Guanosin-3',5'-Monophosphat
CO ₂	Kohlendioxid
COPD	chronisch obstruktive pulmonale Krankheit
CRP	C-reaktives Protein
ERS	European Respiratory Society
FAD	Flavin-Adenin-Dinucleotid
FE _{NO}	expiratorisches Stickstoffmonoxid
FG	Frühgeborenes
FMN	Flavin-Mono-Nucleotid
H ₂ O	Wasser
hν	Lichtquanten
IFN	Interferon
IL	Interleukin
LPS	Lipopolysaccharide
L-NMMA	N ^G -Monomethyl-L-Arginin
L-NAME	N ^G -Nitro-L-Arginin-Methylester
M	Mittelwert
m	männlich
mRNA	messenger-RNA
NADP ⁺	Nikotinsäureamid-Adenindinucleotid-Phosphat
n	Anzahl
NANC	nicht-adrenerg, nicht-cholinerg
NO	Stickstoffmonoxid

NO_2^-	Nitrit
NO_3^-	Nitrat
NOS	NO-Synthase
O_2	Sauerstoff
O_3	Ozon
ONOO^-	Peroxynitrit
p	Signifikanzniveau
ppb	parts per billion
ppm	parts per million
PCD	Primäre Ziliare Dyskinesie
r	Korrelationskoeffizient
RDS	respiratory distress syndrome
RSV	respiratory syncytial virus
RVRTC	raised volume rapid thoracic compression-technique
s	Sekunde
SD	Standardabweichung
SSW	Schwangerschaftswoche
TGF	transforming growth factor
TLC	totale Lungenkapazität
\dot{V}_{NO}	NO-Ausscheidung
V	Atemfluss
VRR	Vesikorener Reflux
VSD	Ventrikelseptumdefekt
w	Weiblich

8 DANKSAGUNG

Mein Dank gilt insbesondere Herrn Prof. Dr. med. F. Ratjen für die Überlassung des Themas und die freundliche und konstruktive Betreuung. Ganz besonders möchte ich mich dafür bedanken, dass er mir bei Fragen immer ohne lange Wartezeit zur Verfügung stand und mir viel Flexibilität und Geduld entgegengebracht hat. Vielen Dank schulde ich Herrn Prof. Dr. med. Th. Voit, in dessen Abteilung mir die Durchführung der Arbeit ermöglicht wurde und Herrn Univ.-Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. H. de Groot für die Übernahme des ersten Gutachtens.

Ebenfalls gebührt Herrn Priv.-Doz. Dr. med. H. Grasemann mein Dank für seine wertvollen wissenschaftlichen Ratschläge und die intensive Durchsicht meiner Dissertation. Er hat mich insbesondere über seinen Stellenwechsel nach Toronto/Canada hinaus bis zum Ende meiner Arbeit hin weiter begleitet.

Ein besonderes Dankeschön richtet sich an Tim Schreiber für seine unermüdliche Hilfe bei allen computertechnischen Problemen, bei deren Bewältigung er mir mit Rat und Tat zur Seite stand.

Meinen Schwestern Dina und Muna Hischma möchte ich ebenfalls ganz herzlich danken, zum einen für die Organisation eines Laptops, der es mir zu flexiblen Zeiten ermöglichte, an der Dissertation weiterzuarbeiten, zum anderen für die konstruktive Kritik sprachlicher Formulierungen.

Meinen Freunden Deborah Basso, Melanie Kaczerowski und Min-Suk Yoon bin ich sehr dankbar für das Korrekturlesen meiner Arbeit, sie haben mir wertvolle Tipps gegeben. Eleni Mitropoulou und Sebastian Hahn haben mich mit ihren Kenntnissen bei statistischen Fragestellungen unterstützt. Danke!

Schließlich bedanke ich mich bei allen, die unerwähnt geblieben sind und mitgewirkt haben, wie bei den Mitarbeitern der verschiedenen Stationen der Kinderklinik für die freundliche Zusammenarbeit, genauso wie bei den Eltern der untersuchten Patienten für ihr Vertrauen und ihre Geduld.

Besonders danken möchte ich meinen Eltern Marianne und Dr. med. Ahmad Hischma, ohne deren Unterstützung das Studium der Medizin und diese Dissertation nicht möglich gewesen wären. Ihnen ist diese Doktorarbeit gewidmet.

9 LEBENS LAUF

Persönliche Angaben

Name: Hischma, Samira
 Wohnort: Waltrop
 Geburtsdatum/-ort: 29. Mai 1976 / Schwerin
 Familienstand: ledig
 Staatsangehörigkeit: deutsch

Schulbildung

08 / 1982 – 06 / 1986 Grundschole Lünen-Horstmar
 08 / 1986 – 06 / 1987 Altlüner-Gymnasium, Lünen
 08 / 1987 – 06 / 1995 Helmholtz-Gymnasium, Dortmund
 06 / 1995 Allgemeine Hochschulreife

Hochschulbildung

ab 10 / 1995 Studium der Humanmedizin
 an der Universität GH Duisburg-Essen
 04 / 2002 Abschluss des Studiums der Humanmedizin

Auslandsaufenthalte

09 / 1999 Famulatur, Anästhesie, AKH Wien, Österreich
 08 / 2000 Famulatur, Gynäkologie, Gachon Medical University,
 Inchon, Korea
 08 / 2001 – 12 / 2001 PJ-Tertial, Chirurgie, St. Luke's Hospital, Guardamangia,
 Malta

Ärztliche Tätigkeit

06 / 2002 – 11 / 2003 Ärztin im Praktikum, Abteilung Pädiatrie,
 Elisabeth-Krankenhaus Essen,
 Chefarzt Priv.-Doz. Dr. med. R. Mallmann
 04 / 2004 – 05 / 2005 Assistenzärztin, Kinder- und Jugendarzt-Praxis
 Dres. med. Schmutte / Heüveldop, Datteln
 seit 06 / 2005 Assistenzärztin,
 Vestische Kinder- und Jugendklinik Datteln,
 Ärztlicher Direktor Prof. Dr. med. W. Andler

Studien- und berufsbegleitende Fortbildungen

10 / 1998 – 03 / 1999	Sonographiekurs „Ultraschallanatomie“, Universitätsklinikum Essen
04 / 2000 – 09 / 2000	Röntgendiagnostik, Universitätsklinikum Essen
01 / 2001	Bedside-Seminar der anästhesiologischen Intensivmedizin (Kleingruppenunterricht über 40 Stunden), Universitätsklinikum Essen
02 / 2001	Techniken zur Anlage zentralvenöser Katheter (einwöchiger Einzelunterricht), Universitätsklinikum Essen
11 / 2002	Kinder-EKG-Kurs, Universitätsklinikum Essen
06 / 2003	Grundkurs Ultraschalldiagnostik für Pädiater (Anwendungsbereiche Abdomen und Schädel), Clementine Kinderhospital Frankfurt am Main
12 / 2003	Seminar Notfallmedizin zur Erlangung des Fachkundenachweises „Rettungsdienst“, Arnsberg
04 / 2004	Pädiatrische Notfälle, Nordrheinischen Akademie, Düsseldorf
10 / 2004	Seminar zur Ausbildung zum Asthmatrainer für Kinder und Jugendliche, Asthma Akademie Köln-Bonn
12 / 2004	Seminar zur Ausbildung zum Neurodermitistrainer für Kinder und Jugendliche, Akademie Luftiku(r)s am Kinderhospital Osnabrück
07 / 2005	Intensiv-Seminar Kindernotfälle, Bielefeld

Nebentätigkeiten

04 / 1997 – 03 / 2001	gewähltes Mitglied der Fachschaftsvertretung Medizin Essen und des Deutschen Famulantenaustausches dfa (Organisation, Beratung und Betreuung von Auslandsaufenthalten)
04 / 1998 – 09 / 2000	studentische Aushilfe in der Pflege, Alfried Krupp Krankenhaus Essen
10 / 1998 – 05 / 2000	gewähltes Mitglied der Fachbereichskommission für Lehre, Studium und Studienreform der Medizinischen Fakultät Essen
05 / 2002 – 11 / 2003	Dozentin im Fach Pädiatrie, Katholische Schule für Pflegeberufe Essen