

---

**Aus der Klinik Schillerhöhe, Gerlingen  
Akademisches Lehrkrankenhaus der Universität Tübingen  
Abteilung für Pneumologie und Pneumologische Onkologie**

**Einfacher Doppeltracer- Gasauswaschtest bei  
chronisch obstruktiver Lungenerkrankung**

**Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Medizin**

**der Medizinischen Fakultät  
der Eberhard Karls Universität  
zu Tübingen**

**vorgelegt von  
Engel, Jennifer**

**2017**

---

**Dekan: Professor Dr. I. B. Autenrieth**

**1. Berichterstatter: Professor Dr. M. J. Kohlhäufli**

**2. Berichterstatter: Privatdozent Dr. J. Hetzel**

**Tag der Disputation: 22.07.2017**

---

# Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis.....	3
Abkürzungsverzeichnis.....	5
1. Einleitung .....	9
1.1 Chronisch obstruktive Lungenerkrankung.....	9
1.1.1 Definition und Epidemiologie .....	9
1.1.2 Symptome und Einteilung der COPD.....	10
1.1.3 Pathogenese und Management .....	10
1.1.4 Pathophysiologie: Emphysem und Bronchiolitis.....	11
1.2 Kleine Atemwege und deren Bedeutung bei COPD .....	13
1.3 Lungenfunktionsdiagnostik bei COPD.....	15
1.4 Übersicht Gasauswaschtest .....	17
1.5 Einfacher Stickstoffauswaschtest.....	18
1.6 Mehrfacher Stickstoffauswaschtest.....	20
1.7 Doppeltracer- Gasauswaschtest (DTG-SBW) .....	24
1.8 Gasauswaschtests bei COPD .....	27
2. Forschungsziel und Fragestellung.....	28
3. Material und Methoden.....	28
3.1 Studienprotokoll .....	28
3.2 Untersuchungsablauf.....	29
3.3 Durchführung des Gasauswaschtest.....	30
3.3.1 Durchführung des N <sub>2</sub> -SBW .....	32
3.3.2 Durchführung des N <sub>2</sub> -MBW.....	32
3.3.3 Durchführung des DTG-SBW.....	33
3.3.4 Durchführung weitere Lungenfunktionstests.....	39
3.4 Datenerfassung und statistische Auswertung .....	39
4. Ergebnisse .....	40
4.1 Klinische und demographische Daten .....	40
4.2 Ergebnisse der einzelnen Gasauswaschtests.....	42
4.2.1 N <sub>2</sub> -SBW .....	42
4.2.2 N <sub>2</sub> -MBW .....	44
4.2.3 DTG-SBW .....	46

---

4.3	Variabilität und Reproduzierbarkeit.....	50
5.	Diskussion .....	55
5.1	Gasauswaschtests bei COPD .....	55
5.2	Ergebnisse der Gasauswaschtests bei COPD und Assoziation zur herkömmlichen Lungenfunktion .....	57
5.3	Reproduzierbarkeit der Gasauswaschtests bei COPD.....	59
5.4	Limitationen .....	62
5.5	Schlussfolgerungen .....	63
6.	Zusammenfassung .....	64
7.	Veröffentlichungen .....	66
8.	Danksagung .....	66
9.	Erklärung zum Eigenanteil der Dissertationsschrift .....	67
	Literaturverzeichnis.....	72
	Abbildungsverzeichnis.....	79
	Tabellenverzeichnis.....	80

---

## Abkürzungsverzeichnis

AUC	Area Under the Curve, Fläche unter der Kurve
AUC <sub>60-90</sub>	Fläche unter der Kurve zwischen 60 - 90 % des abgeatmeten Volumens
ATS	American Thoracic Society
BMI	Body Mass Index
BTPS	Body Temperature Pressure Saturated, Körpertemperatur, Druck gesättigt
CC	Closing Capacity, Verschluss-Kapazität
CDI	Convection-depending Inhomogeneity, Konvektions-abhängige Inhomogenität
CO1	Probanden mit COPD GOLD I
CO2	Probanden mit COPD GOLD II-III
CO <sub>2</sub>	Kohlendioxid
COPD	Chronic Obstructive Pulmonary Disease, Chronisch Obstruktive Lungenerkrankung
CR	Wiederholbarkeitskoeffizient
CT	Computertomographie
CV	Closing Volume, Verschlussvolumen
DCDI	Diffusion- and Convection-dependent Inhomogeneity, Diffusions- und Konvektions-abhängige Inhomogenität
DL <sub>CO</sub>	Diffusionskapazität für Kohlenstoffmonoxid
dN <sub>2</sub>	N <sub>2</sub> -Steigung im Bereich des Alveolarplateaus

---

DSR	Dead Space Reducer, Totraumreduzierer
DTG	Doppeltracer-Gas
DTG-SBW	Doppeltracer-Gas einfacher Auswaschtest
ERS	European Respiratory Society
FEV <sub>1</sub>	Forciertes expiratorisches Volumen in 1 Sekunde
FRC	Funktionelle Residualkapazität
FRC <sub>MBW</sub>	Funktionelle Residualkapazität gemessen mit den mehrfachen Auswaschtest
FVC	Forcierte Vitalkapazität
FWHM	Full Width at Half Maximum, Halbwertsbreite
GLI	Global Lung Initiative, Globale Lungenerkrankungs- Initiative
GOLD	Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease, globale Initiative für die chronisch obstruktive Lungenerkrankung
HA	Healthy adults, Gesunde Erwachsene
He	Helium
ICC	Intraclass Correlation Coefficient, Intraklassen-Korrelationskoeffizient
ICS	Inhaled corticosteroids, Inhalative Steroide
IVC	Inspiratorische Vitalkapazität
LCI	Lung Clearance Index
MBW	Multiple Breath Washout, mehrfacher Auswaschtest
MEF <sub>25-75</sub>	Mittlerer expiratorischer Fluss während der Ausatmung von 25 % - 75% der Vitalkapazität

---

MM	Molare Masse
MMcalc	Berechnetes molares Massensignal
MMss	Molare Massensignale im Seitenstrom
Ms	Millisekunde
n.d.	nicht definiert
n.s.	nicht signifikant
N <sub>2</sub>	Stickstoff
O <sub>2</sub>	Sauerstoff
pb	Post-Bronchodilatation
Peak	Absolute Spitzenkonzentration des Signals
PEF	peak expiratory flow, Spitzenfluss
pred.	Predicted, vorhergesagt
p-Wert	Signifikanzwert
PY	Packungsjahre [die Zahl der täglich konsumierten Zigarettenpackungen (Inhalt ca. 20 Stück) wird mit der Zahl der Raucherjahre multipliziert]
Raw	Atemwegswiderstand
r <sup>2</sup>	Bestimmtheitsmaß
REML	Residual Maximum Likelihood
RV	Residualvolumen
Sacin	Parameter für Ventilationsinhomogenität in den azinären Atemwegen
SAD	Small Airways Disease, Erkrankung der kleinen Atemwege

---

---

SBW	Single Breath Washout, einfacher Auswaschtest
Scond	Parameter für Ventilationsinhomogenität in den konduktiven Atemwegen
SD	Standardabweichung
SF <sub>6</sub>	Schwefelhexafluorid
sRAW	Spezifischer Atemwegswiderstand
SVC	Slow vital capacity, Langsam gemessene Vitalkapazität
SIII	Slope der Phase III
TLC	Totale Lungkapazität
TO	Lung Turnover
USFM	Ultraschall-Flussmessung
VC	Vitalkapazität
VI	Ventilationsinhomogenität
Vt	Tidal Volumen
V <sub>TG</sub>	Volume of Trapped Gas, Volumen des gefangenen Gases
V1-4	Visit (Besuch) 1- 4
WHO	World Health Organisation

---

# **1. Einleitung**

## **1.1 Chronisch obstruktive Lungenerkrankung**

### **1.1.1 Definition und Epidemiologie**

Der Begriff COPD (Chronic Obstructive Pulmonary Disease), der chronisch obstruktive Bronchitis und Lungenemphysem zusammenfasst, wurde zuerst in den 60er Jahren in den USA genutzt (1,2). Aufgrund der steigenden Inzidenz der COPD wurde von Experten der World Health Organisation (WHO) und des US National Institute of Health 1997 die Global Initiative für Chronic Obstructive Pulmonary Disease (GOLD) gegründet. Die GOLD Organisation arbeitet mit Fachkräften des Gesundheitswesens und den Gesundheitsbehörden an einer Stärkung des Bewusstseins für COPD. Sie hat das Ziel die Prävention und Behandlung der COPD weltweit zu verbessern. Nach der GOLD Definition ist die COPD eine Erkrankung, die durch eine nicht vollständig reversible Atemwegsobstruktion charakterisiert ist (3). Die Atemwegsobstruktion ist chronisch progredient. Hauptsymptome sind chronischer Husten, Auswurf und Atemnot (3).

Die COPD ist weltweit die vierthäufigste Todesursache (4). Es wird erwartet, dass die Mortalität der COPD bis zum Jahr 2020 an die dritte Stelle der weltweiten Statistik für Todesursachen vorrücken wird (4). Damit ist die COPD die einzige führende Todesursache mit steigender Prävalenz (5). Weltweit sind zurzeit über 210 Millionen Menschen an COPD erkrankt (6), in Deutschland beträgt die Prävalenz bei über 40-jährigen 13,2 % und bei über 70-jährigen mehr als 25 %. Aber bei nur 40 % der Betroffenen wird eine COPD diagnostiziert (7). Nach aktuellen Schätzungen entwickelt jeder vierte Erwachsene über 35 Jahre im Laufe seines Lebens eine COPD (Lebenszeitrisiko ca. 27,6 %) (8). Die volkswirtschaftlichen Kosten der Erkrankung werden in den USA auf über 14 Milliarden Dollar geschätzt (5). Die chronisch obstruktive Lungenerkrankung ist somit ein globales Gesundheitsproblem (9).

---

### **1.1.2 Symptome und Einteilung der COPD**

Zu den charakteristischen Symptomen der COPD gehören chronischer Husten, Dyspnoe und Sputumproduktion. Diese Symptome sind chronisch progredient, können von Tag zu Tag variieren und sind in der Regel mit einer obstruktiven Atemflusslimitation assoziiert (3). Umgekehrt kann eine signifikante Atemflusslimitation auch ohne das Vorhandensein von Husten und Auswurf bestehen. Mit zunehmendem Fortschreiten der Erkrankung können Fatigue, Appetit- und Gewichtsverlust auftreten. Bei der COPD treten auch signifikante extrapulmonale Effekte auf, die zum Schweregrad der Erkrankung beitragen. Dazu zählen Muskelatrophie, Osteoporose, kardiovaskuläre und metabolische Komplikationen (10).

Die klinische Verdachtsdiagnose der COPD wird anhand der oben genannten Symptome chronischer Husten, Auswurf und Dyspnoe und anhand der entsprechend vorliegenden Risikofaktoren, am häufigsten Nikotinabusus, gestellt. Die Spirometrie mit Nachweis einer Obstruktion (forciertes expiratorisches Volumen in der ersten Sekunde ( $FEV_1$ ) im Verhältnis zur Vitalkapazität (VC) unter 70 %, postbronchodilatatorisch) bestätigt die Atemflusslimitierung und hilft bei der Diagnosestellung der COPD. Dann kann anhand der mittels Spirometrie ermittelten  $FEV_1$  die lungenfunktionelle Schweregradeinteilung der COPD-Patienten erfolgen (siehe auch Tabelle (Tab.) 1a im Anhang). In Zusammenschau mit dem klinischen Symptomscore und der Exazerbationsrate wird eine Risiko-Klassifikation nach GOLD in die Subgruppen A-D (siehe auch Tab. 1b im Anhang) empfohlen.

### **1.1.3 Pathogenese und Management**

Die Genese der COPD geht auf die langjährige Exposition zu toxischen Gasen und Partikeln, am häufigsten Zigarettenrauch, zurück (9,11). Auch wenn Zigarettenrauch die Hauptursache für eine COPD-Erkrankung darstellt, entwickelt nur ein kleiner Prozentsatz (10 bis 20 %) der Raucher eine klinisch fassbare COPD (9).

---

Bei bestimmten genetischen Voraussetzungen kommt es nach Einwirkung von inhalativ-toxischen Substanzen, in erster Linie durch den bereits genannten Zigarettenrauch, zur Entwicklung einer gesteigerten inflammatorischen Antwort mit strukturellen Veränderungen der Atemwege (4,5). Es kommt zur Akkumulation von entzündlichem Sekret im Lumen der Atemwege. Zusätzlich tritt eine Infiltration und somit Verdickung der Atemwegswand durch Immunzellen, wie Neutrophile, Makrophagen, CD4-Zellen, CD8-Zellen und B-Zellen auf (11). Mit zunehmenden Schweregrad der Erkrankung steigt die Anzahl der CD8- und B-Zellen (11).

Das Management der COPD umfasst vor allem präventive Maßnahmen wie die Vermeidung inhalativer Schadstoffexposition, insbesondere den Verzicht auf Tabakrauchen. Die medikamentösen Therapieoptionen beinhalten unter anderen Bronchodilatoren und Kortikosteroide (inhalativ und oral). Auch nicht medikamentöse Therapieoptionen haben bei der COPD einen hohen Stellenwert. Zu nennen sind dabei körperliches Training, Patientenschulung, physiotherapeutische Atemtherapie, Hilfsmitteltherapie mit Sauerstoff und Heimbeatmung sowie apparative und operative Behandlungsoptionen mit Bullektomie und Lungenvolumenreduktion (13,14). Das Ziel der Behandlung besteht darin, das Fortschreiten der Erkrankung zu mindern oder aufzuhalten und die Symptome und Lebensqualität der Patienten zu verbessern. Eine Heilung kann therapeutisch nicht erreicht werden.

#### **1.1.4 Pathophysiologie: Emphysem und Bronchiolitis**

Der COPD liegen pathophysiologisch zwei Hauptkomponenten zugrunde: Das Emphysem und die obstruktive Bronchiolitis. Beide Komponenten treten im unterschiedlichen Ausmaß beim individuellen Patienten auf (15).

Die **Bronchiolitis** bezeichnet die Entzündung in den „kleinen Atemwegen“ (Innendurchmesser < 2 mm). Das typische histologische Bild beschreibt ein kollabiertes Lumen der Atemwege mit vermehrten intraluminalem Sekret (9,15,16). Durch die inflammatorischen Veränderungen der kleinen Atemwege

---

kommt es zunehmend zu Proliferation und Fibrose (17). Es konnte eine positive Korrelation zwischen dem Ausmaß der inflammatorischen Veränderungen und der Atemwegsobstruktion bei COPD aufgezeigt werden (11). Die Atemflusslimitation bei der Bronchiolitis, lässt sich auch auf die Einengung und Obliteration des Atemwegslumen durch Sekret erklären (15). Bereits bei jungen Rauchern lässt sich eine Entzündung in den kleinen Atemwegen im pathologischen Präparat an postmortal untersuchten Lungengewebe nachweisen (18), diese sogenannte Raucherbronchiolitis gilt als mögliche früheste Manifestation der COPD. Niewoehner et al. konnten als Erste nachweisen, dass definitive pathologische Veränderungen schon in den peripheren Atemwegen von jungen asymptomatischen Rauchern nachzuweisen sind (18).

Das **Emphysem** wird definiert als „dauerhafte abnormal vermehrte Luftansammlung distal der terminalen Bronchiolen, begleitet von einer Zerstörung der Atemwegswände“ (19). Ein Ungleichgewicht zwischen Proteasen und Antiproteasen wurde lange Zeit für die Entstehung eines Emphysems verantwortlich gemacht (16,20). Es kommt dabei zur proteolytischen Zerstörung der Atemwegswand (17). In den letzten Jahren wurde daneben die Hypothese aufgestellt, dass die Zerstörung der Atemwegswand auch auf ein Versagen der Reparaturprozesse der Lunge beruhen kann (21). Neuere Arbeiten deuten darauf hin, dass die Bronchiolitis mit Zerstörung der kleinen Atemwege der Ausbildung eines Emphysems vorausgeht (12,22). Damit steht die Manifestation der Erkrankung im Bereich der kleinen Atemwege im Zentrum des Interesses.

Das häufigere zentrilobuläre oder zentroazinäre Emphysem tritt vor allem bei Rauchern auf und betrifft vor allem die oberen Abschnitte der Lunge. Es ist durch Destruktion und Dilatation der zentralen Anteile des Azinus charakterisiert. Azinus bezeichnet hier die Luftwege und Alveolen, die einem einzelnen Bronchiolus terminalis zuzuordnen sind. Es zeigt sich ein heterogenes Zerstörungsmuster mit Oberlappendominanz (23,24). Das panlobuläre oder panazinäre Lungenemphysem tritt vermehrt beim erblichen  $\alpha$ 1-Antitrypsin-Mangel auf und findet sich häufiger in den unteren Abschnitten der Lunge (20).

---

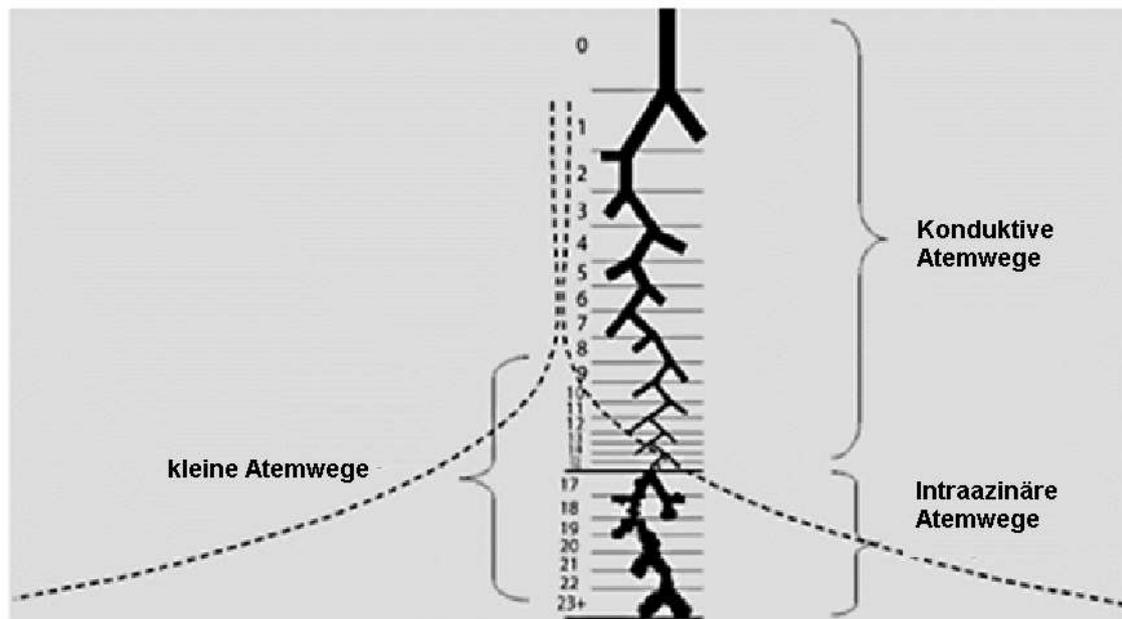
Aufgrund dieses genetischen Defektes wird zu wenig von der Antiprotease  $\alpha$ 1-Antitrypsin gebildet, somit fehlt ein Schutz vor Proteasen, die das Lungengewebe destruieren. Wenn die Alveolarsepten einreißen, können die Emphyseblasen konfluieren. Es bildet sich bei weiterem Progress ein bullöses Lungenemphysem aus. Beim panlobulären Emphysem ist der gesamte Azinus von der Destruktion betroffen, es zeigt sich ein homogenes Zerstörungsmuster.

## **1.2 Kleine Atemwege und deren Bedeutung bei COPD**

Die kleinen Atemwege sind bei vielen respiratorischen Erkrankungen, wie Asthma, COPD und Mukoviszidose, mitbetroffen. Aufgrund methodischer Probleme Erkrankungen der kleinen Atemwege mittels herkömmlichen Lungenfunktionstests zu messen wurden sie auch als „silent zone“ bezeichnet (25,26). Abbildung (Abb.) 1 zeigt eine schematische Aufteilung der Atemwege nach Robinson et al. (27) und beruht auf dem Weibelschen Lungenmodell (28). Die Trachea (in der Abbildung mit 0 bezeichnet) verzweigt sich am unteren (distalen) Ende in die beiden Hauptbronchi der linken und der rechten Lunge. Durch eine Vielzahl weiterer Verzweigungen (Bifurkationen) in jeweils zwei Tochteräste, welche immer geringere Durchmesser und Längen aufweisen, entsteht eine filigrane Verzweigung, an dessen Enden die gasaustauschenden (respiratorischen) Einheiten liegen. Demnach trifft man erst am Ende des Baums auf die Alveolen, in denen dann der tatsächliche Gasaustausch stattfinden kann. Der Bronchialbaum selbst dient ausschließlich dem Transport der Atemluft, er bildet den *konduktiven* Teil der Lunge. Die gestrichelte Linie kennzeichnet die Querschnittsfläche der Atemwege, die deutlich in der Lungenperipherie zunimmt. Die Atemwege 0 - 16 sind die konduktiven, also luftleitenden Atemwege, die Atemwege 17 - 23 werden als intraazinäre Atemwege bezeichnet, dort findet der diffusive Gasaustausch statt. Die kleinen Atemwege bezeichnen die Atemwege etwa jenseits der 8. Generation mit einem Innendurchmesser unter zwei Millimeter ohne Knorpelanteile. Die Querschnittsfläche der Atemwege steigt von ca. 2,5 cm<sup>2</sup> in der Trachea auf ca. 180 cm<sup>2</sup> auf Höhe der terminalen Bronchiolen, dem letzten Abschnitt der luftleitenden Atemwege, an (12). Erklärt durch den

---

höheren Radius ergibt sich ein geringerer Atemwegswiderstand. Somit steuern die kleinen Atemwege mit einem Durchmesser unter zwei Millimeter nur ca. 10 % des gesamten Atemflusswiderstandes bei (26,29,30). Das erklärt die Schwierigkeit eine Obstruktion der kleinen Atemwege mittels der herkömmlichen fluss- bzw. widerstandsorientierten Lungenfunktionstests zu erkennen (29).



**Abbildung 1:** Schematische Aufteilung der Atemwege nach Robinson et al. (27).

Bei der COPD sind die kleinen Atemwege bereits in einer frühen Krankheitsphase mitbetroffen. Die pathophysiologischen Veränderungen in den kleinen Atemwegen, die bei Rauchern der Erkrankung vermutlich Jahre vorausgehen und Raucherbronchiolitis genannt werden gelten als Vorstufe einer COPD bzw. des zentroazinären Lungenemphysems (31,32). Mittels herkömmlicher Lungenfunktionstests (Spirometrie, Bodyplethysmographie) sind diese Frühveränderungen schwer messbar. Deshalb wurden Studien mit dem Ziel durchgeführt, zu erkennen, welche Raucher besonders anfällig für die Entwicklung einer manifesten COPD sind. Es konnte in einer Studie, welche mit Rauchern mittleren Alters (durchschnittlich 62,5 Jahre alt) über insgesamt 13 Jahre durchgeführt wurde, gezeigt werden, dass ein Teil der Raucher ein hohes

---

Risiko für die Entwicklung einer COPD hatten. Diese waren gekennzeichnet durch ein niedriges Verhältnis der  $FEV_1/VC$  und Auffälligkeiten im einfachen Stickstoffauswaschtest (33).

Hogg et al. zeigten einen Zusammenhang zwischen dem Fortschreiten der COPD und histologischen Veränderungen der kleinen Atemwege. Es besteht eine Assoziation zwischen der Verdickung der Atemwegswand mit Hypertrophie der glatten Muskulatur und Fibrose, der zunehmenden Füllung des Atemwegslumen mit Mukus und dem Progress der COPD (11). McDonough et al. konnten einen Zusammenhang zwischen der Obstruktion der mittleren und kleinen Atemwege und dem emphysematösen Umbau der Lunge bei COPD herlegen. Dabei wurde mittels Computertomographie in hochauflösender Technik (HR-CT) die Reduktion der terminalen Bronchiolen bei fortschreitender COPD, GOLD Klassifikation I bis IV, aufgezeigt. Zusätzlich wurde mittels histologischer Analyse die Anzahl der kleinen Atemwege pro Quadratzentimeter berechnet. Es wurde die Hypothese aufgestellt, dass vor dem Auftreten der emphysematösen Zerstörung des Lungengewebes bei COPD eine Reduktion der kleinen Atemwege auftritt (22). Hogg et al. beschreibt bei 159 Probanden den Zusammenhang zwischen einer verringerten  $FEV_1$  und der Gewebszunahme in den Wänden der kleinen Atemwege. Zusätzlich zeigte sich in den chirurgisch entfernten Proben der COPD Patienten (GOLD I bis IV) eine Zunahme von Mukus im Atemwegslumen (11). Der Progress der COPD ist assoziiert mit einer Zunahme der Wanddicke der kleinen Atemwege (34). Es zeigt sich eine zunehmende Anzahl der CD8-Lymphozyten und der neutrophilen Granulozyten in den kleinen Atemwegen bei COPD Patienten (34).

### **1.3 Lungenfunktionsdiagnostik bei COPD**

Die **Spirometrie** ist das einfachste und weltweit am häufigsten eingesetzte Verfahren in der Diagnostik der COPD. Sie ist erforderlich zur Diagnose und Schweregradeinteilung einer Obstruktion. Als Kriterien zur Diagnose einer COPD gelten der spirometrische Nachweis einer Obstruktion, definiert durch das Verhältnis von  $FEV_1/VC$  unter 70 % und eine Reversibilität der  $FEV_1$  von unter 15

---

% und unter 200 ml gegenüber dem Ausgangswert nach Inhalation eines kurzwirksamen Beta-2-Sympathomimetikums oder Anticholinergikums (13). Bereits 1866 führten die Aufzeichnungen spirometrischer Volumen-Zeit-Kurven zur Darstellung niedriger Atemzugvolumina und zum Nachweis einer verlängerten Expirationsdauer bei Patienten mit Lungenemphysem (35). 1947 wurde von Robert Tiffeneau das nach ihm benannte Manöver der forcierten Expiration zur Diagnostik von obstruktiven Atemwegserkrankungen eingesetzt (36). Mit den Parametern FEV<sub>1</sub>, dem expiratorischen Spitzenfluss (PEF) und der FEV<sub>1</sub>/VC werden hauptsächlich Veränderungen in den zentralen Atemwegen erfasst. Eine Diagnostik der kleinen Atemwege ist mit diesen Parametern nur sehr eingeschränkt möglich. So führt erst eine schwere Obstruktion der kleinen Atemwege mit mehr als 50 % Beteiligung zu einem signifikanten FEV<sub>1</sub>-Abfall. Die Parameter FEF<sub>25-75</sub>, welche den mittleren expiratorischen Fluss während der Ausatmung von 25 - 75 % der Vitalkapazität beschreiben, wurden als Hilfsgrößen zur Beurteilung der kleinen Atemwege untersucht (37,38). Es zeigte sich dabei allerdings eine hohe Streubreite der Parameter.

In Deutschland ist die **Bodyplethysmografie** zur Diagnostik und Differenzialdiagnostik der obstruktiven Atemwegserkrankungen etabliert (39). Damit kann eine Messung des intrathorakalen Gasvolumens erfolgen. Eine Erhöhung der Lungenvolumina, darunter die Parameter totale Lungenkapazität (TLC), funktionelle Residualkapazität (FRC) und Residualvolumen (RV) findet sich häufig bei Patienten mit Lungenemphysem (40). Die Resistancemessung, die den Atemwegswiderstand (Raw) erfasst, gibt die Strömungswiderstände in den Atemwegen an und kann Obstruktionen in den größeren Atemwegen erfassen. Die Bodyplethysmographie ermöglicht es, auch komplexe und kombinierte Ventilationsstörungen genauer aufzuzeigen. Von Vorteil sind die weitgehende Mitarbeitsunabhängigkeit und die hohe Sensitivität der Methode. Von Nachteil ist der hohe apparative Aufwand, mit der Notwendigkeit einer Druckmesskammer. Aber auch der mit der Bodyplethysmographie erfasste Atemwegswiderstand steigt bei einem Verschluss von über 50 % der kleinen Atemwege nur um 10 % an (29) und stellt somit keinen sensitiven Test zur Erfassung von frühen Veränderungen der kleinen Atemwege bei COPD dar.

---

Bei der ergänzend zu Spirometrie und Bodyplethysmographie durchgeführten **CO-Diffusions-Messung** werden Störungen des Gasaustausches gemessen, die durch Veränderungen des Lungengewebes verursacht werden können, wie typischerweise bei dem Lungenemphysem. Die Messung der pulmonalen Diffusionskapazität für Kohlenmonoxid, erstmals eingeführt von Marie und August Krogh im Jahre 1909 (41), gilt seit Ende der 50er Jahre weltweit als klinisch etablierte Methode zur Lungenfunktionstestung. Die für das Lungenemphysem charakteristische Zerstörung des Alveolarraumes bedingt eine Zunahme der Diffusionsstrecken bei gleichzeitiger Abnahme der Gasaustauschfläche der alveolokapillären Membran, so dass nur noch wenig Prüfgas in den Blutraum der Lungenkapillaren diffundiert, so dass die DL<sub>CO</sub> (Diffusionskapazität für Kohlenmonoxid) erniedrigt ist. Somit können Rückschlüsse auf das Emphysemausmaß gemacht werden.

In der Frühdiagnostik der COPD, insbesondere in den Frühstadien der Raucherbronchiolitis, sind die oben genannten Verfahren der Lungenfunktion, nicht sensitiv genug. Alternative Testverfahren wie die in den folgenden Abschnitten beschriebenen Gasauswaschverfahren (siehe Kapitel 1.4-1.8) scheinen besser geeignet, um diese Veränderungen in den kleinen Atemwegen zu erfassen.

#### **1.4 Übersicht Gasauswaschtest**

Die Atemwegsstruktur der gesunden Lunge ermöglicht die relativ gleichmäßige Verteilung der Atemgase bei der Einatmung und eine effektive Durchmischung mit dem bereits vorhandenen Gasmisch. Bei obstruktiven Atemwegserkrankungen kommt es durch die ungleichmäßige Verengung der luftleitenden Atemwege zu einer inhomogenen Verteilung eines eingeatmeten Gases. Diese Ventilationsinhomogenitäten (VI) lassen sich mit Gasauswaschtests messen. Bei isolierten Erkrankungen der kleinen Atemwege lassen sich Ventilationsinhomogenitäten häufig bei normalen Kennwerten in der herkömmlichen Lungenfunktionsdiagnostik messen, somit gelten diese Verfahren als sehr sensitiv für eine Frühdiagnostik von Erkrankungen in der

---

Lungenperipherie (42). Die ersten Stickstoffauswaschtests wurden bereits 1940 von Darling et al. durchgeführt (43). 1949 wurde erstmals der einfache Stickstoffauswaschtest beschrieben (44), bereits kurz darauf erfolgte die Einführung des mehrfachen Stickstoffauswaschtest (MBW) (45). Geebnet wurde der Weg durch die vorangegangene Erfindung des Massenspektrometers. Heutzutage stehen dank Fortschritte in der Computer- und Sensortechnik kommerzielle Geräte für einfache Varianten von Gasauswaschtests, die Stickstoffauswaschtests, zur Verfügung. Im Jahr 2013 wurden auf europäischer Ebene Empfehlungen für die Standardisierung von Durchführung, Gerätetechnik und Auswertung von Gasauswaschtest publiziert (46). Dieses Konsensus Dokument stellt eine wichtige Grundlage für den zukünftigen klinischen Einsatz dieser Verfahren dar.

Gasauswaschtests können mit verschiedenen Gasen, die nicht am Gasaustausch teilnehmen und weitgehend unlöslich in Blut und Gewebe sind, durchgeführt werden. Die Gase dürfen nicht toxisch sein und müssen die oben genannten Kriterien erfüllen. Die Gase (zum Beispiel Helium (He) oder Schwefelhexafluorid (SF<sub>6</sub>)) werden in unschädlichen Konzentrationen über einen einzelnen oder mehrere Atemzüge in die Lunge „eingewaschen“, dann wird durch vorgeschriebene Atmung von Raumluft das Gas wieder abgeatmet, die Aufzeichnung der Konzentration gegenüber dem exhalierten Volumen ergibt die „Auswaschkurve“. Diese Ein- oder Mehratemzugtechniken können mit unterschiedlichen Atemmanövern durchgeführt werden. Wird Stickstoff (N<sub>2</sub>) als inertes, bereits in der Lunge vorhandenes Gas genutzt, ist keine Einwaschphase notwendig. Diese Variante wird als Stickstoffauswaschtest bezeichnet. Die Auswaschung erfolgt dann mit 100 % Sauerstoff (O<sub>2</sub>).

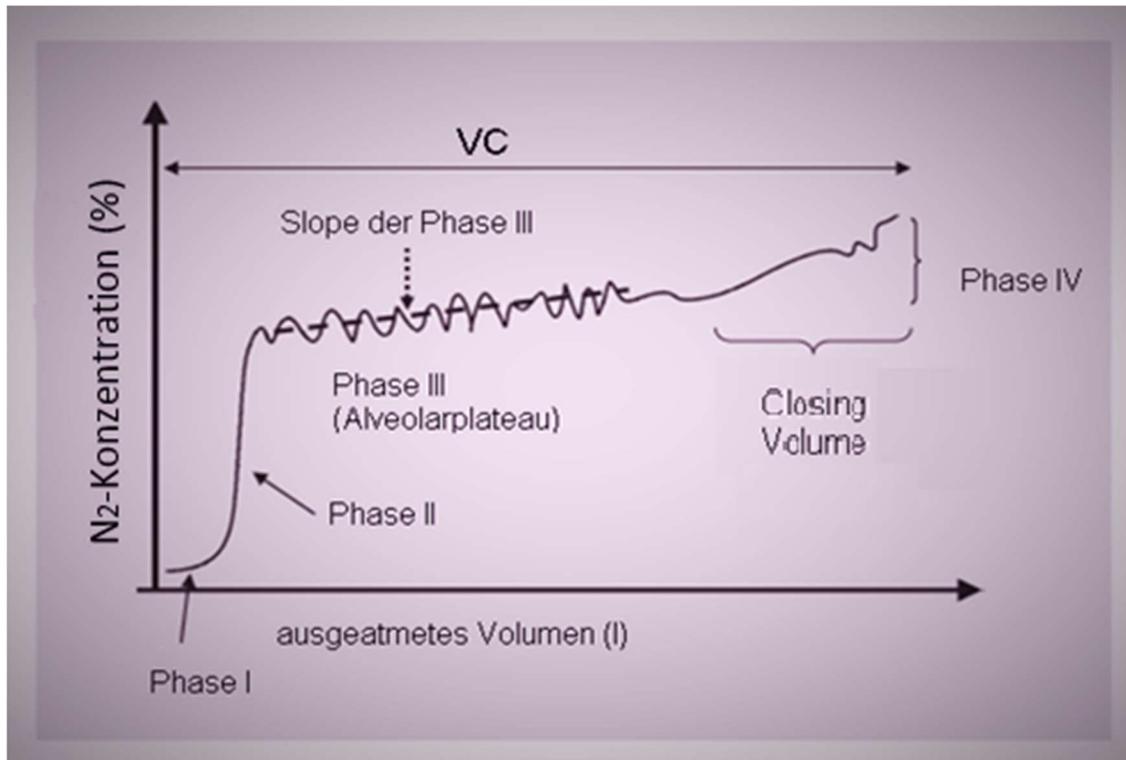
### **1.5 Einfacher Stickstoffauswaschtest**

Bei dem klassischen N<sub>2</sub>-SBW wird ein Vitalkapazitäts-Atemmanöver mit konstantem niedrigem Fluss um 0,5 l/s durchgeführt. Dabei wird in einem maximalen Inspirationsmanöver 100 % Sauerstoff inhaliert, bei der Ausatmung

---

die Stickstoffkonzentration gemessen und gegen das exhalierte Volumen aufgezeichnet.

Beim ersten Schritt erfolgt die Ausatmung bis zum Residualvolumen, beim zweiten Schritt erfolgt die Inhalation von 100 % Sauerstoff bis zum Erreichen der totalen Lungkapazität. Dann erfolgt die Ausatmung von der TLC bis zum RV. Die ausgeatmete Stickstoffkonzentration wird gemessen und als typisches Expirogramm (siehe Abb. 2) gegen das exhalierte Volumen mit den vier dafür typischen Phasen aufgezeichnet: Bei Gesunden erscheint nach Abatmung des Totraumgases (Phase I) und der Mischung aus den zentralen Atemwegen (Phase II) ein Alveolarplateau (Phase III). Das Alveolarplateau, also die Phase III zeigt eine leichte Steigung, welche am Ende der Ausatmung kurz vor Erreichen des RV-Niveaus einen Knick aufweist. Dieser Knick kennzeichnet den basalen Verschluss der kleinen Atemwege. Es beginnt eine Steigung, welche durch die relativ vermehrte Abatmung der stickstoffreichen Atemluft aus den apikalen Lungenabschnitten zustande kommt. Dabei bezeichnet Closing Volume (CV) das nach Beginn des Verschlusses abgeatmete Volumen. Der Verschluss der kleinen Atemwege beginnt bei gesunden Erwachsenen nach circa 80 bis 90 % der Ausatmung der Vitalkapazität. Bei obstruktiven Lungenerkrankungen höheren Schweregrades mit inhomogener Ventilation kann der Punkt des Anstiegs, der „Knickpunkt“ oftmals nicht bestimmt werden. Dann kann der klassische Parameter zur Erfassung von inhomogener Ventilation, die Steigung in der Alveolarphase ( $dN_2$ ), bestimmt werden. Der klassische  $N_2$ -SBW ist ein schnell durchführbarer Test, der allerdings ein komplexes Atemmanöver voraussetzt. Der wichtigste Parameter des  $N_2$ -SBW ist die Steigung in der Alveolarphase, die zwischen 25 und 75 % des exhalierten Volumens bestimmt wird (46).  $dN_2$  ist ein globaler Marker und repräsentiert Ventilationsinhomogenitäten, die in den großen und kleinen Atemwegen entstehen, er kann somit nicht den anatomischen Ursprung der VI identifizieren.



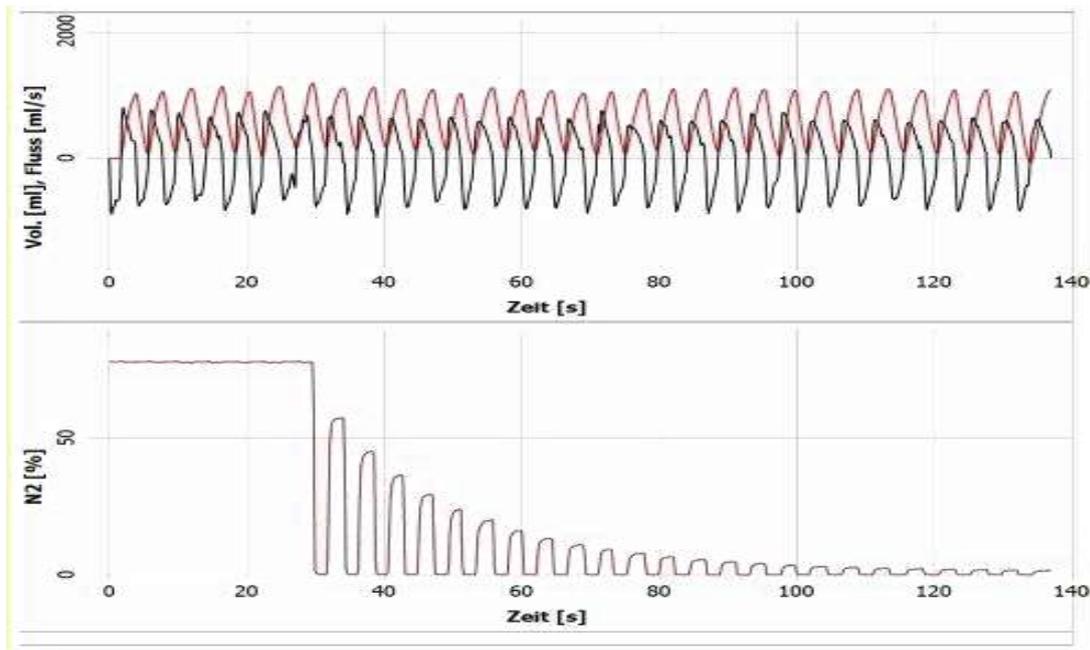
**Abbildung 2:** Typisches Expirogramm eines einfachen Stickstoffauswaschtest nach Robinson et al. (27).

### 1.6 Mehrfacher Stickstoffauswaschtest

Der N<sub>2</sub>-MBW Test ist informativer als der N<sub>2</sub>-SBW Test, benötigt aber eine längere Untersuchungszeit (27). Die Durchführung des MBW wurde detailliert von Verbanck et al. (47,48) und Gustafsson (49) beschrieben. Der MBW erfasst VI bei entspannter Ruheatmlage und bietet neben der Möglichkeit, globale Marker für VI zu messen auch den Vorteil, regionale Aspekte der Ventilation in der Lungenperipherie zu differenzieren. Beim mehrfachen Stickstoffauswaschtest wird während der Ruheatmung, wenn Lecks ausgeschlossen werden konnten und eine stabile Atmung erreicht wurde, von Raumluft auf 100 % Sauerstoff umgestellt. Es erfolgt dann über mehrere Minuten die mehrfache Ruheatmung des O<sub>2</sub>. Dabei wird die Abatmung des in der Lunge befindlichen N<sub>2</sub> bei jedem Atemzug aufgezeichnet. Dabei kennzeichnet der am meisten genutzte Parameter Lung Clearance Index (LCI) die Anzahl der „Lung

---

turnovers“ (TO) (Verhältnis des kumulierten expiratorischen Volumens zur funktionellen Residualkapazität), die gebraucht werden, um die Stickstoffkonzentration auf 1/40, bzw. auf 2,5 %, der Ausgangskonzentration wieder auszuwaschen. Beim gesunden Probanden dauert der Test ca. 2 bis 3 Minuten. Abbildung 3 zeigt die Stickstoffauswaschung aufgezeichnet gegen die Zeit.



**Abbildung 3:** N<sub>2</sub>-MBW bei einem gesunden Probanden.

Es wurden drei pathophysiologische Mechanismen beschrieben, welche Ventilationsinhomogenitäten verursachen können und diesen anatomische Zonen zugeordnet (50). In der ersten Zone, welche oberhalb (proximal) der am Ende gelegenen (terminalen) Bronchiolen liegt, ist der Atemfluss konvektionsabhängig (laminare Flüsse und Druckgradienten). In der zweiten Zone besteht eine Diffusionsabhängigkeit bezogen auf den Konzentrationsgradienten. Der Anteil der VI, der in der ersten Zone generiert wird, wird CDI (convection-dependent inhomogeneity), der aus der zweiten Zone DCDI (diffusion- and convection-dependent inhomogeneity) genannt. Bei Gesunden liegt die Diffusions-Konvektions-Front in der Nähe des azinären Einganges (46). Die detaillierte Analyse der N<sub>2</sub>-Auswaschkurve Atemzug für

---

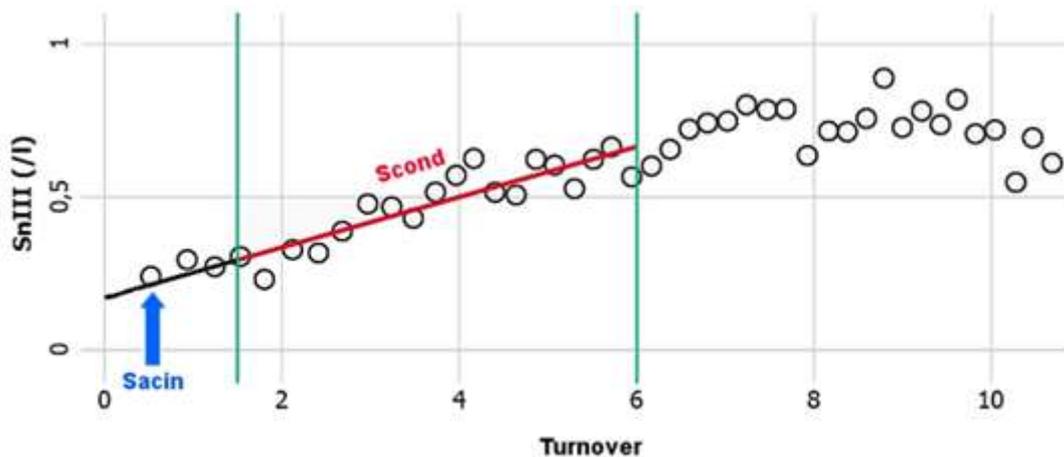
Atemzug, die sogenannte Phase III-Analyse, ermöglicht die Anteile der CDI und DCDI an der VI zu differenzieren und damit regionale Aspekte der VI in der Lungenperipherie zu bestimmen. Diese Überlegungen basieren auf einem Model der Diffusion und Konvektion in einer realistischen Lungengeometrie (51).

Der LCI als wichtigster Outcome Parameter des MBW spiegelt globale Ventilationsinhomogenitäten wieder und stellt einen stabilen, reproduzierbaren Index dar (52). Bei Gesunden liegen Normwerte für den LCI (gemessen im N<sub>2</sub>-MBW mit EXHALYZER®D) bei Kindern und Jugendlichen (7 - 19 Jahre) bei  $6,5 \pm 0,6$  und für Erwachsene (40 - 60 Jahre) bei  $7,3 \pm 0,8$  (53), d.h. ein LCI von 7 wäre bei einem 8-jährigen als auch bei einem 50-jährigen normal. Dieser sehr geringe Alterseffekt und der beinahe fehlende Einfluss von Größe und Geschlecht machen den LCI zu einem interessanten Parameter für die klinische Verlaufsbeobachtung (54). Die meisten Daten zum LCI stammen aus der Pädiatrie: Zur Erkennung der frühen (Mukoviszidose)- Lungenerkrankung zeigte sich der LCI wesentlich sensitiver als z.B. FEV<sub>1</sub> und auch als Parameter für das Therapie-Outcome ist er schon mehrfach genutzt worden (27,55,56). Es wird sogar gefordert, dass bei Mukoviszidosepatienten mit normaler FEV<sub>1</sub> der LCI als primärer Zielparameter für Studien verwendet wird (57).

Als weiterer Parameter wird die funktionelle Residual Kapazität berechnet. Bei jedem Atemzug wird die N<sub>2</sub>-Konzentration gegen das kumulativ ein- und ausgeatmete Lungenvolumen aufgezeichnet. Im Rahmen der Phase III-Analyse werden zusätzlich zwei weitere Parameter, Scond und Sacin, ermittelt. Scond, welcher die Homogenität der Ventilation in den konduktiven Atemwegen (CDI) wiedergibt, wird aus dem Anstieg der SnIII-Kurve (Kurve der auf die aktuelle N<sub>2</sub>-Konzentration normalisierten Alveolarplateaus der einzelnen Atemzüge) berechnet, als lineare Regressionsanalyse zwischen dem 1,5 und 6 TO (siehe Abb. 4). Sacin repräsentiert die VI in den azinären Atemwegen (DCDI). Dort befindet sich die gasaustauschende Zone. Zusammengefasst gibt Sacin die regionalen azinären Ventilationsinhomogenitäten wieder, wohingegen Scond die regionalen konduktiven Ventilationsinhomogenitäten darstellt. Sacin errechnet sich als erster Atemzug von SnIII - (erster Atemzug TO \* Scond) (27). In der

---

Abbildung 4 erkennt man die graphisch während des N<sub>2</sub>-MBW ermittelte SnIII-Kurve und die Ableitung von Sacin und Scond aus dieser.



**Abbildung 4:** SnIII-Kurve und Ableitung Sacin und Scond.

Es besteht die Möglichkeit den MBW mit einem vorgeschriebenen Tidalvolumen von einem Liter oder einem „relaxed-tidal-breathing“ Protokoll ohne Vorgabe des Tidalvolumens durchzuführen. Im Falle der entspannten Ruheatmung wird eine einfache „Korrektur“ der SIII-Parameter auf das Atemzugvolumen empfohlen (Multiplikation mit expiratorischem Tidalvolumen) (46), dieses Vorgehen ist jedoch bisher nicht evaluiert.

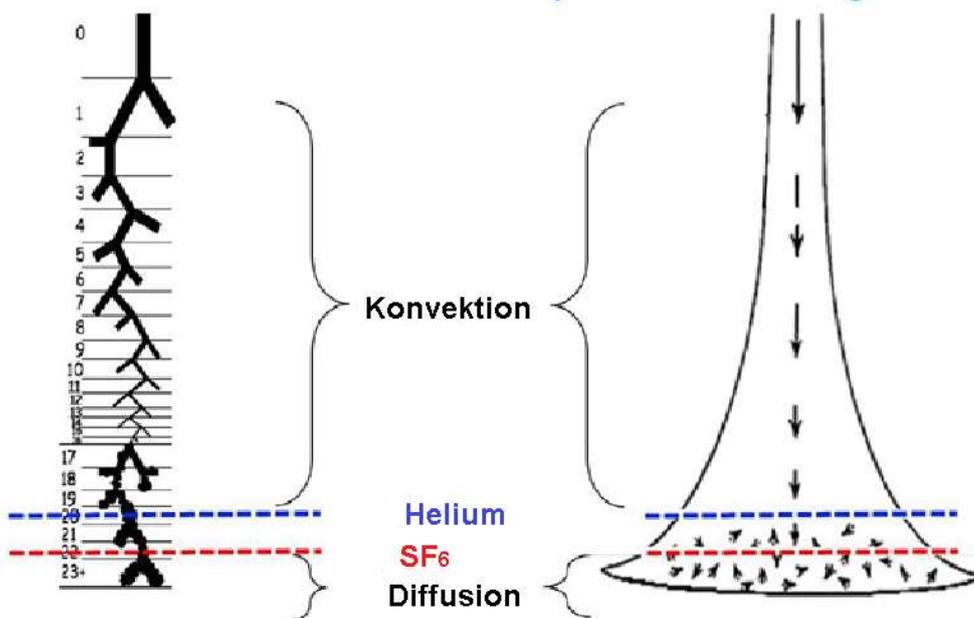
Der N<sub>2</sub>-SBW und der N<sub>2</sub>-MBW sind generell sowohl bei gesunden Probanden als auch bei Patienten mit obstruktiver Atemwegserkrankung praktikable Tests. Beim klassischen N<sub>2</sub>-SBW erfordert das Atemmanöver jedoch eine gute Kooperation und Verständnis. Der MBW erfordert lediglich eine entspannte Ruheatmung und kann bereits beim Kleinkind angewandt werden. Der MBW hat jedoch eine längere Testdauer, bietet aber den Vorteil durch die Phase III-Analyse Hinweise für die Lokalisation der Ventilationsinhomogenitäten in der Peripherie zuzulassen. Von Nachteil ist, dass bei Atemwegserkrankungen mit Vorliegen von schwereren Ventilationsinhomogenitäten der Auswaschvorgang und damit der gesamte Test bedeutend länger dauern. Obwohl bereits 1950 der MBW beschrieben wurde (45), gibt es bis heute keine publizierten Studien über die

---

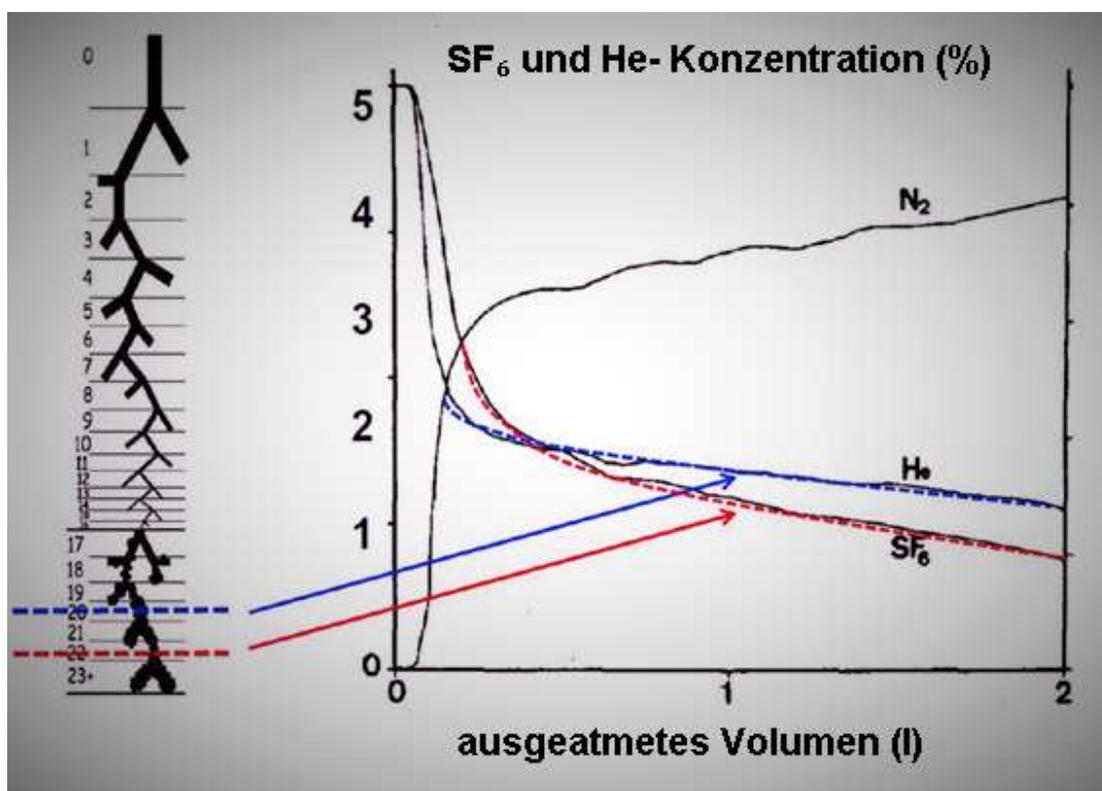
Möglichkeit Ventilationsinhomogenitäten bei der chronisch obstruktiven Lungenerkrankung mithilfe des LCI als Hauptparameter des MBW darzustellen. Somit bleibt die Bedeutung des MBW bei Patienten mit COPD derzeit unklar.

### **1.7 Doppeltracer- Gasauswaschtest (DTG-SBW)**

Eine alternative Möglichkeit zur Beurteilung der VI in der Lungenperipherie ist die Durchführung eines SBW mit zwei unterschiedlichen Tracer-Gasen. Anhand eines asymmetrischen Lungenmodells konnte bereits 1981 ein besseres Verständnis für das Verhalten der beiden Gase Helium und Schwefelhexafluorid bei SBW- und MBW-Tests erbracht werden (58). Das schwere SF<sub>6</sub> mit einer molaren Masse von 146 hat eine mehr peripher gelegene Diffusions-Konvektions-Front als das leichtere Helium (27). Mit Helium und Schwefelhexafluorid wurden bereits mehrere Gasauswaschteststudien durchgeführt. Es konnte gezeigt werden, dass diese Gase sicher in der Anwendung sind (59). Die Abbildungen 5 und 6 geben schematisch nach Paiva et al. den SF<sub>6</sub>- und He- Gastransport in der Lunge wieder (60). Auf der jeweils linken Seite der Abbildungen erkennt man die asymmetrische Ausrichtung des Lungenmodells, die Aufzweigungen der Atemwege von zentral nach peripher umfasst im Durchschnitt 23 Generationen. Die terminalen Bronchien und die Bronchiolen ab der 9. Generation mit einem Innendurchmesser < 2 mm werden als kleine Atemwege bezeichnet. Im Bereich der 16. Aufteilungsgeneration gehen die kleinen Atemwege in die gasaustauschende Zone über (siehe auch Abbildung 5). Ein wesentliches Merkmal des intra-azinären Gastransportes ist die Diffusionsfront, welche als quasi stationär über den Verlauf einer Inspiration betrachtet wird. Die quasi stationäre Diffusionsfront resultiert aus einer Balance des konvektiven und diffusiven Gastransportes. Dieses impliziert, dass die Diffusionsfront des weniger diffusiven Gases SF<sub>6</sub> peripherer lokalisiert ist als die Diffusionsfront des besser diffusiven Gases He (siehe auch Abb. 5 und 6).



**Abbildung 5:** Schematische Konvektions- und Diffusionsfront im Lungenmodell.



**Abbildung 6:** SF<sub>6</sub> und He- Expirogramm anhand eines schematischen Lungenmodells nach Paiva et al. (60).

---

Die beiden Tracer-Gase SF<sub>6</sub> und He wurden bereits mehrfach separat voneinander für Gasauswaschtests genutzt. Es existieren nur wenige Daten über die Benutzung der beiden Gase zusammen bei erwachsenen Personen (62–64). Der Gedanke dahinter zwei unterschiedliche Tracer-Gase zu benutzen liegt darin, Ventilationsinhomogenitäten in den peripheren Atemwegen besser aufzudecken. Die Konvektionsabhängige VI von SF<sub>6</sub> und He ist vermutlich identisch, wohingegen die konvektions-diffusions-abhängige VI für die beiden Gase unterschiedlich ist (siehe auch Abb. 5 und 6). Die Konvektions-Diffusionsfront liegt für das schwerere Gas SF<sub>6</sub> einige Generationen weiter peripher als für das leichtere Gas Helium. Ein isolierter Krankheitsprozess im Bereich der distalen azinären Zone, dort wo die Konvektions-Diffusionsfront für SF<sub>6</sub> liegt, führt überwiegend zu einem Einfluss auf das SF<sub>6</sub>- Auswaschsignal (steilerer Slope III und damit Erhöhung der normalen Slope-Differenz zwischen beiden Gasen). Ein Krankheitsprozess im Bereich des Eingangs zum Azinus dagegen führt überwiegend zu einer Veränderung des He-Auswaschsignals (steilerer Slope III für Helium und die Differenz zwischen beiden Slopes nimmt ab oder kehrt sich sogar um). Mit der simultanen SF<sub>6</sub>- und He-Gasauswaschanalyse können somit, ähnlich wie aus der Phase III- Analyse des MBW, Hinweise für den Ursprung der VI in der Lungenperipherie abgeleitet werden („Slope-Differenz zwischen Helium und SF<sub>6</sub>“) (65).

Die Durchführung des in unserer Studie erstmals bei Erwachsenen durchgeführten, einfachen Doppeltracer-Gasauswaschtest (DTG-SBW) wurde erstmals 2011 von Singer (66) beschrieben. Auch hierbei wird ein Gasgemisch mit Helium und SF<sub>6</sub> genutzt und relative Veränderungen der Auswascheigenschaften dieser Gase erfasst. Vorteile sind die Nutzbarkeit von kommerziell verfügbarer Hardware und die Einfachheit dieses Tests.

---

## 1.8 Gasauswaschtests bei COPD

Obwohl bereits 1950 der MBW beschrieben wurde (45), gibt es bis heute keine publizierten Daten über den LCI bei COPD. Zur Anwendung des kommerziell erhältlichen Gerätes EXHALYZER®D (Eco Medics AG, Dürnten, Schweiz) bei COPD gibt es bislang ebenfalls keine publizierten Daten.

Bei der COPD ist der mittels MBW ermittelte Wert Sacin der Parameter, der am stärksten mit dem Progress der Erkrankung korreliert, wohingegen Scond bei COPD nur gering pathologische Werte aufweist (67). Das bedeutet, dass die vorhandenen Daten globale azinäre und konduktive VI bei COPD aufzeigen.

Während Studien mit Gasauswaschverfahren bei manifester COPD eine Rarität sind, gibt es einzelne ältere Arbeiten, die auf den Stellenwert dieser Verfahren zur eventuellen Frühdiagnostik raucherinduzierter Veränderungen hinweisen:

Van Muylem et al. untersuchten 27 männliche Raucher, bei denen aufgrund eines Bronchialkarzinoms eine Lobektomie durchgeführt werden musste. Die histologische Aufarbeitung des entnommenen Lungenpräparates zeigte einen Zusammenhang zwischen dem Ausmaß der inflammatorischen und fibrotischen Veränderungen der Bronchiolen und einem Parameter im Doppeltracer-Gasauswaschtest mit Helium und SF<sub>6</sub> sogar bei den Patienten mit normalem Verhältnis FEV<sub>1</sub>/VC (63). Cosio et al. konnten mithilfe des SBW erstmals indirekt die durch Rauchen induzierten Veränderungen in der Frühdiagnostik darstellen (68). Verbanck et al. konnten mittels Gasauswaschttests frühe raucherinduzierte Veränderungen bei Probanden mit normaler FEV<sub>1</sub> mittels MBW aufzeigen (69). In der Studie von Cosio et al. wurden der Zusammenhang zwischen dem Schweregrad der Inflammation in den kleinen Atemwegen bei Rauchern und Ventilationsinhomogenitäten, gemessen über dem einfachen Stickstoffauswaschtest, aufgezeigt. Dabei wurden der klassische Lungenfunktionstest und der Einfache-Stickstoffauswaschtest vor geplanten Lungenbiopsien durchgeführt. Es konnte gezeigt werden, dass Veränderungen der kleinen Atemwege verlässlich mit den N<sub>2</sub>-SBW-Parametern „closing capacity“ und „Slope der Phase III“ erfasst werden können. Diese Parameter waren bereits vor den klassischen Lungenfunktionsparametern verändert (68).

---

## **2. Forschungsziel und Fragestellung**

Das Ziel der Arbeit war es, den Stellenwert eines neuen einfachen Doppeltracer-Gasauswaschtests bei Patienten mit COPD zu untersuchen. Einerseits wurden Variabilität und Reproduzierbarkeit der Parameter des DTG-SBW im Vergleich zu klassischen Stickstoffauswaschtests erfasst. Typische Muster von Ventilationsinhomogenitäten bei COPD sollten analysiert werden (globale VI durch die Indices LCI bzw.  $dN_2$  und VI der konduktiven und azinären Atemwege durch Scond und Sacin). Parameter des neuen DTG-SBW sollten mit klassischen Parametern des einfachen und mehrfachen Stickstoffauswaschtests, sowie mit Parametern der Routine-Lungenfunktion verglichen werden. Letztendlich sollte die mögliche klinische Einsatzfähigkeit des neuen einfachen Doppeltracer-Gasauswaschtest bei leichter bis mittelgradiger COPD beurteilt werden.

## **3. Material und Methoden**

### **3.1 Studienprotokoll**

Diese Studie ist Teil einer größeren prospektiven klinischen Studie (Evaluation des einfachen- und mehrfachen Stickstoffauswaschtest im Vergleich zu einem neuen 2-Tracer Auswaschtest; Deutsches Klinisches Probanden Register DRKS00003541). Diese Studie wurde von der Ethik-Kommission der Ärztekammer Nord-Württemberg anerkannt (AZ F-2011-073). In der pneumologischen Abteilung der Klinik Schillerhöhe, Zentrum für Pneumologie und Thoraxchirurgie, Akademisches Lehrkrankenhaus der Universität Tübingen, Robert-Bosch-Krankenhaus-GmbH in Stuttgart wurde die Studie durchgeführt. Es wurden Patienten mit verschiedenen (stabilen) Erkrankungen eingeschlossen, welche die kleinen Atemwege betreffen. Darunter waren Patienten mit Asthma bronchiale, COPD und Mukoviszidose. Diese Arbeit befasst sich ausschließlich mit der Gruppe der Patienten mit COPD. Als Kontrollgruppe wurden 40 gesunde Nichtraucher eingeschlossen.

---

Die Patienten mit COPD wurden in zwei Schweregrade eingeteilt: COPD GOLD I (leichte lungenfunktionelle Einschränkung), COPD GOLD II-III (mittelgradige lungenfunktionelle Einschränkung). Die Einteilung erfolgte nach der zum Studienzeitpunkt gültigen COPD GOLD-Klassifikation, deren spirometrische Einteilung auch aktuell noch gültig ist (siehe auch Tabelle 1a im Anhang). Insgesamt wurden 20 COPD Patienten und 40 gesunde Nichtraucher in einem Zeitraum von 04/2012 bis 08/2013 eingeschlossen. Generelle Ausschlusskriterien waren Alter unter 18 Jahre, Unfähigkeit zur Einwilligung in die Studie, Schwangerschaft, schwere kardiale Komorbiditäten und bekannte Unverträglichkeit von Salbutamol. Bei den Patienten mit COPD wurde eine Nikotinanamnese von mindestens zehn Packungsjahren (PY) vorgegeben. Die COPD Diagnose sollte in Übereinstimmung mit den internationalen Leitlinien gestellt worden sein. Die weiteren Ein- und Ausschlusskriterien sind in Tabellenform dem Anhang zu entnehmen (Tab. 2 und 3).

### **3.2 Untersuchungsablauf**

Nach der schriftlichen Einwilligung in die Studie erfolgte bei allen gesunden Probanden die Durchführung eines Routine-Lungenfunktionstests (Spirometrie und Bodyplethysmographie) gefolgt von drei N<sub>2</sub>-MBW, drei N<sub>2</sub>-SBW und drei DTG-SBW Tests. Die COPD Patienten führten zusätzlich noch eine Diffusionsmessung, mit der die Diffusionskapazität für Kohlenstoffmonoxid (DL<sub>CO</sub>) bestimmt wird, bei der ersten Vorstellung durch. COPD Patienten haben vor jedem Besuch ihre häusliche Medikation, inklusive der bronchodilatatorischen Medikation, eingenommen. Der erste Folgebesuch wurde bei allen Teilnehmern nach einer Woche durchgeführt. Weitere Folgebesuche nach einem Monat und nach sechs Monaten folgten. Bei jedem Besuch wurde eine Spirometrie und Bodyplethysmographie sowie die Dreiergruppe der Gaswaschaustest (N<sub>2</sub>-SBW, N<sub>2</sub>-MBW, DTG-SBW) mit jeweils drei Wiederholungen durchgeführt. Bei jedem Probanden erfolgten die Dokumentation von aktuell eingenommenen Medikamenten, sowie eine Anamnese (inkl. Allergianamnese), sowie die Befragung des Raucherstatus mit

---

Berechnung der Packungsjahre. Der genaue Ablaufplan ist der Tabelle 4 und 5 im Anhang zu entnehmen.

### **3.3 Durchführung des Gasauswaschtest**

Für alle Gasauswaschtests wurde das zugelassene und kommerziell erhältliche Gerät EXHALYZER®D (Eco Medics AG, Dürnten, Schweiz) benutzt. Alle Testungen wurden im aufrechten Sitzen mit einem Nasenclip durchgeführt. Vor Beginn der Testung wurde täglich eine Qualitätskontrolle durchgeführt. Dazu zählen der Kalibrations-Volumentest mittels einer Ein-Liter-Kalibrationspumpe, die Flussmessung und die Sauerstoffkonzentrationsmessung. Eine Abweichung der Werte von kleiner als 2 % wurde akzeptiert.

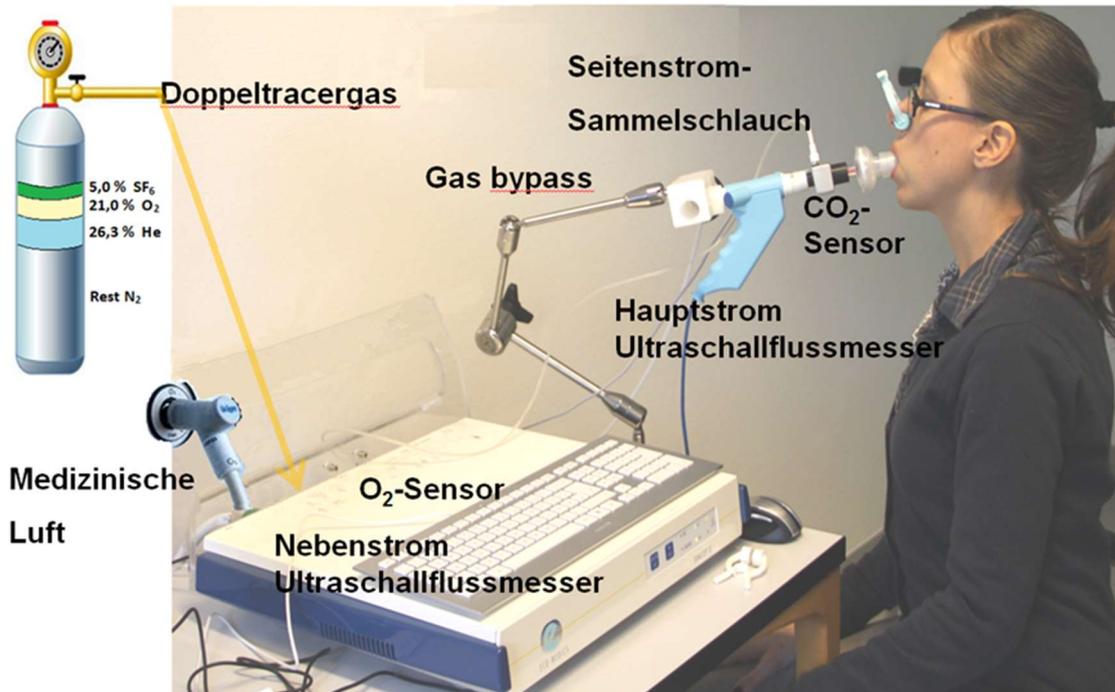
In dem zur Messung genutztem Gerät wurden die Flüsse sowie das abgeleitete Volumen über einen Ultraschallflussmesser berechnet. Dafür wurden die Volumen und Flussmessungen dem aktuellen Umgebungsdruck angepasst und das inspiratorische Volumen nach BTPS (body-temperature-pressure-saturated) korrigiert.

Über einen Sammelschlauch (Nafion®) wurde eine kontinuierliche Ableitung einer Gasprobe aus dem Hauptstrom mit einem Fluss von 200 ml/min zu einem zweiten Ultraschallflussmesser abgeleitet. Darüber wurden die molare Massensignale im Seitenstrom (MMss) mit einer Frequenz von 200 Hertz bestimmt. Ein Infrarot Kohlendioxid (CO<sub>2</sub>) Sensor ist im Hauptstrom, ein O<sub>2</sub> Laser-Sensor ist im Seitenstrom integriert. Die Stickstoffkonzentration wird indirekt über die O<sub>2</sub>- und CO<sub>2</sub>- Konzentration bestimmt ( $N_2 = 1 - O_2 - CO_2 - \text{Argon}$ ). Die Argonkonzentration wird mit 0,93 % angenommen.

Der O<sub>2</sub>-Sensor hat eine Genauigkeit mit einer Abweichung unter +/- 0,1 Volumen % und eine schnellen Reaktionszeit von < 80 Millisekunden (ms). Der CO<sub>2</sub>-Sensor hat eine Genauigkeit mit einer Abweichung unter +/- 0,3 Volumen % und eine schnelle Reaktionszeit von < 60 ms.

Das Patientenzwischenstück besteht aus einem schnorchelartigen Mundstück, einem Bakterienfilter (zum einmaligen Gebrauch) und einem Totraumreduzierer

(death space reducer, DSR Größe 3, 22ml). Eingefügt ist eine austauschbare Spirette mit zwei Öffnungen. Der Aufbau wird in Abb. 7 wiedergegeben. Der gesamte Totraum in dem Flusstück plus Bakterienfilter wird mit 40 ml angegeben.



**Abbildung 7:** Aufbau des EXHALYZER®D zur Durchführung von Gasauswaschtests.

Alle MBW und SBW Parameter wurden mit der im EXHALYZER®D enthaltenen Software (Spiroware® 3.1.6, Eco Medics AG Dürnten, Schweiz) berechnet. Das Pausen-Zeitintervall zwischen den einzelnen Tests lag bei fünf Minuten. Falls nach der Pausenzeit von fünf Minuten die Grundwerte nicht auf die Basislinie vom Anfang der Messung zurückgegangen waren, wurde die Pausenzeit entsprechend verlängert. Jeder durchgeführte Atemzug wird online vom Untersucher überwacht und qualitätskontrolliert. Die N<sub>2</sub>-MBW und N<sub>2</sub>-SBW Tests wurden entsprechend der ATS/ERS Leitlinien für Gasauswaschtests durchgeführt (70).

---

### **3.3.1 Durchführung des N<sub>2</sub>-SBW**

Der N<sub>2</sub>-SBW-Test wurde wie unter Abschnitt 1.5 beschrieben durchgeführt. Der Test wurde akzeptiert, wenn es keinen Hinweis auf ein Leck gab und die in- und expiratorische Vitalkapazität nicht mehr als 10 % voneinander abwichen. Der Hauptparameter des Phase III-Slope ( $dN_2$ ) wurde zwischen 25 - 75 % des abgeatmeten Volumens berechnet. Falls erforderlich wurden die zur Berechnung notwendigen Grenzen manuell festgelegt. Der Test wurde dreimal wiederholt mit einem Zeitintervall von mindestens drei Minuten zwischen den Testdurchläufen. Diese Pausenzeiten waren notwendig um die alveolare N<sub>2</sub>-Konzentration wieder zu normalisieren.

### **3.3.2 Durchführung des N<sub>2</sub>-MBW**

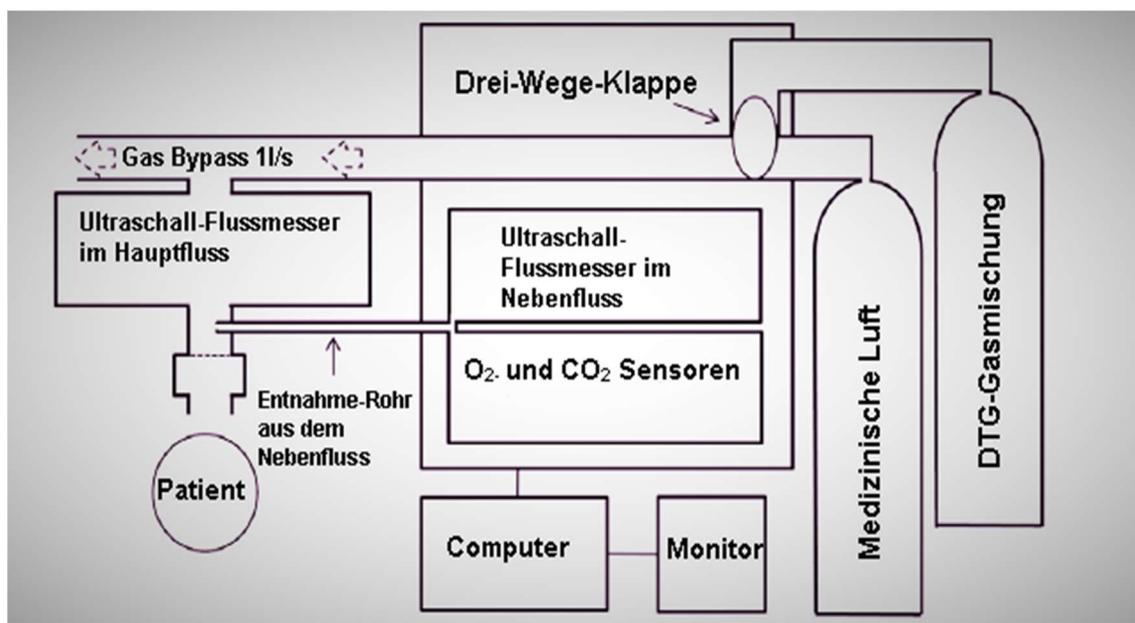
Der N<sub>2</sub>-MBW-Test wurde wie unter Abschnitt 1.6 dargestellt durchgeführt. Nach einem Zeitintervall von fünf Minuten wurde der mehrfache Stickstoffauswaschtest wiederholt. Wir stellten dabei sicher, dass alle Signale auf die Grundlinie zurückgestellt waren, bevor wir die erneute Messung begannen. Das bedeutet, dass der Wiederholungstest erst durchgeführt wurde, wenn die N<sub>2</sub>-Werte auf das Ausgangsniveau wieder angestiegen waren. Die Qualitätskriterien wurden dabei wie folgend festgelegt: kontinuierliche entspannte Ruheatmung ohne Hinweise auf Lecks, geschlossene Flussvolumenkurven, kein plötzlicher N<sub>2</sub>-Anstieg während der Einatmung. Wir führten drei technisch akzeptable N<sub>2</sub>-MBW Durchläufe nach diesen Vorgaben durch. Der Versuch wurde ausgeschlossen und wiederholt, wenn die FRC Abweichung über 25 % gegenüber den anderen beiden Auswasch-Tests lag. Die Qualitätskontrolle nach Beendigung des Tests schloss eine visuelle Inspektion aller aufgezeichneten Atemzüge, einschließlich der SIII-Analyse ein. Inadäquate Atemzüge, zum Beispiel durch Husten, Atemanhalten oder kardiale Oszillationen, wurden manuell ausgeschlossen. Entsprechend der Empfehlungen des Konsensus Dokumentes (46), korrigierten wir die Slope-III-Parameter mittels Multiplikation mit ( $V_t$ ):  $dN_2 \times VC$  expiratorisch,  $S_{cond} \times V_t$ ,  $S_{acin} \times V_t$ , wie bereits zuvor beschrieben (71,72). Diese Korrektur

---

wurde in Übereinstimmung mit den aktuellen Konsensus Empfehlungen durchgeführt (46). Zusätzlich wurde auch ein korrigierter  $Sc_{nd} \cdot V_t$  berechnet.

### 3.3.3 Durchführung des DTG-SBW

Der DTG-SBW wurde wie unter Abschnitt 1.7 beschrieben aufgebaut. Die Zusammensetzung des zur Durchführung genutzten Gases enthielt Schwefelhexafluorid in einer Konzentration von 5 % und Helium in einer Konzentration von 26,3 %. Zusätzlich vorhanden waren 21 % Sauerstoff und 47,7 % Stickstoff. Das Gasgemisch hat mit 28,9 g/mol eine ähnliche Molare Masse wie trockene medizinische Luft. Für unsere Studie bezogen wir ein Gasgemisch gemäß der o. g. Konzentrationen von der Westfalen AG, Münster. Den Aufbau des DTG-SBW gibt Abbildung 8 wieder:

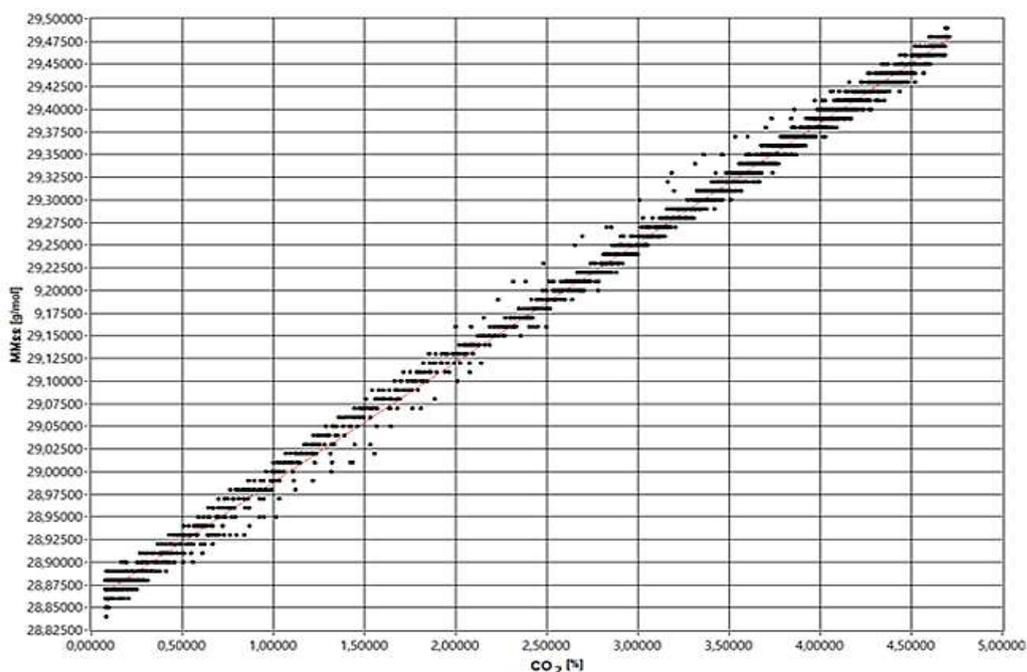


**Abbildung 8:** Aufbau des Ultraschallflussmesser-DTG-SBW nach Singer et al. (73).

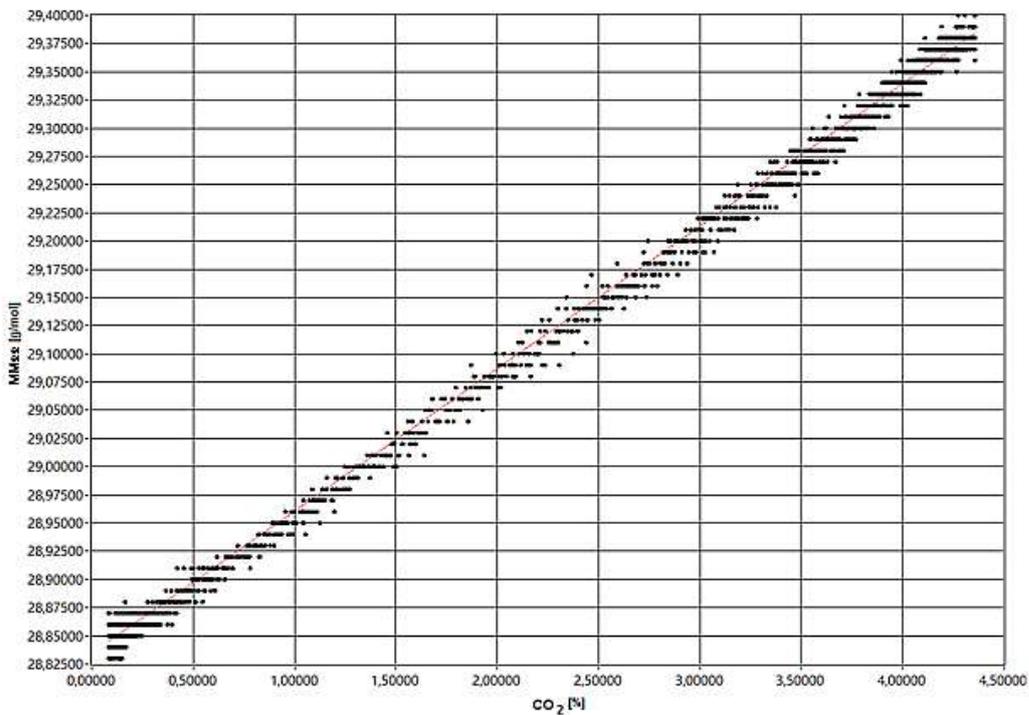
Bei stabiler Ruheatmung (mindestens 5 gleichmäßige Atemzüge erforderlich) wurde dann das Doppeltracer-Gasgemisch für einen Atemzug ausgehend vom FRC-Niveau inhaliert. Während der DTG Einatmung und der folgenden Aus- und wieder Einatmung wurde das molare Massensignal (MMss) im Seitenstrom über

einen Ultraschallflussmesser (UFSM) aufgezeichnet. Die CO<sub>2</sub>- und O<sub>2</sub>- Signale wurden über den Hauptstrom mittels UFSM abgeleitet. Für die Analyse wurde die eigens entwickelte Software, basierend auf LabVIEW™ 2012 verwendet. Das MMss-Signal während der Ein- und Ausatmung der Umgebungsluft ist annähernd genau proportional zum CO<sub>2</sub>-Signal ( $R^2 > 0.99$ ). Dieses wurde bereits zuvor von Singer et al. für gesunde Erwachsene gezeigt (66). Wir konnten dies nun auch für erwachsene Nichtraucher und COPD Patienten zeigen (siehe Abb.9 a und b). In der Abbildung wird MMss (g/mol) gegen CO<sub>2</sub> (%) bei einem gesunden Nichtraucher (9a) und einem COPD Probanden (9b) aufgezeichnet. Es zeigt sich eine lineare Regression aller Messwerte während der Vor-Test Atemzüge von 12 tidalen SBW Tests. Dies ermöglicht, zu jedem Zeitpunkt aus dem CO<sub>2</sub>-Signal das MM- Signal zu rekonstruieren (MMcalc) - auch während der Ein- und Ausatmung des Doppeltracer-Gases.

**Abbildung 9a und 9b:** Assoziation zwischen MMss (g/mol) und CO<sub>2</sub> (%) während der Ruheatmung von Raumluft (74).

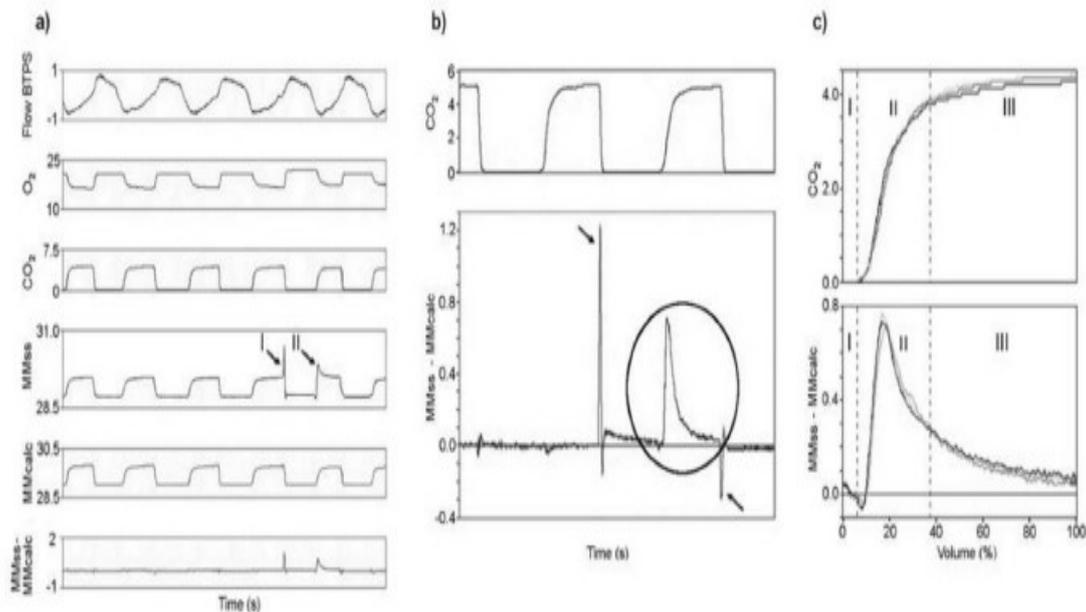


**Abbildung 9a:** Gesunde Nichtraucher.  $R^2 > 0.99$ .



**Abbildung 9b:** Patient mit COPD.  $R^2 > 0,99$ .

Die Differenz zwischen dem gemessenen (MMss = Signal aus kumulativer Fraktion von O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>, SF<sub>6</sub> und He) und dem aus dem CO<sub>2</sub>-Signal rekonstruierten MM-Signal (MMsscalc) ergibt dann das endgültige Testsignal (Abb. 10) – dieses enthält Informationen über den Auswaschprozess von Helium und SF<sub>6</sub> (73). Die genaue Herleitung des Testsignals wird in nachfolgender Abbildung 10 illustriert:



**Abbildung 10:** Synchronisierte Rohdaten und DTG-Test-Signal.

In der Abb. 10 erkennt man unter a) den linken Teil der Abbildung die synchronisierten Rohdaten. Dabei wird (von oben nach unten) der Fluss (BTPS/l), O<sub>2</sub>-Konzentration (%), CO<sub>2</sub>-Konzentration (%), das molare Massensignal im Seitenstrom (MMss, g/mol) das berechnete molare Massensignal (MMcalc, g/mol) und das Differenz Signal (MMss-MMcalc, g/mol) aufgezeichnet. Der erste Strich (I) gibt den Beginn der Inspiration des Doppeltracer-Gases an, der zweite Doppelstrich (II) zeigt die folgende Expiration und dabei ein abweichendes MMss-Signal verglichen zu den vorangegangenen normalen Ausatmungen.

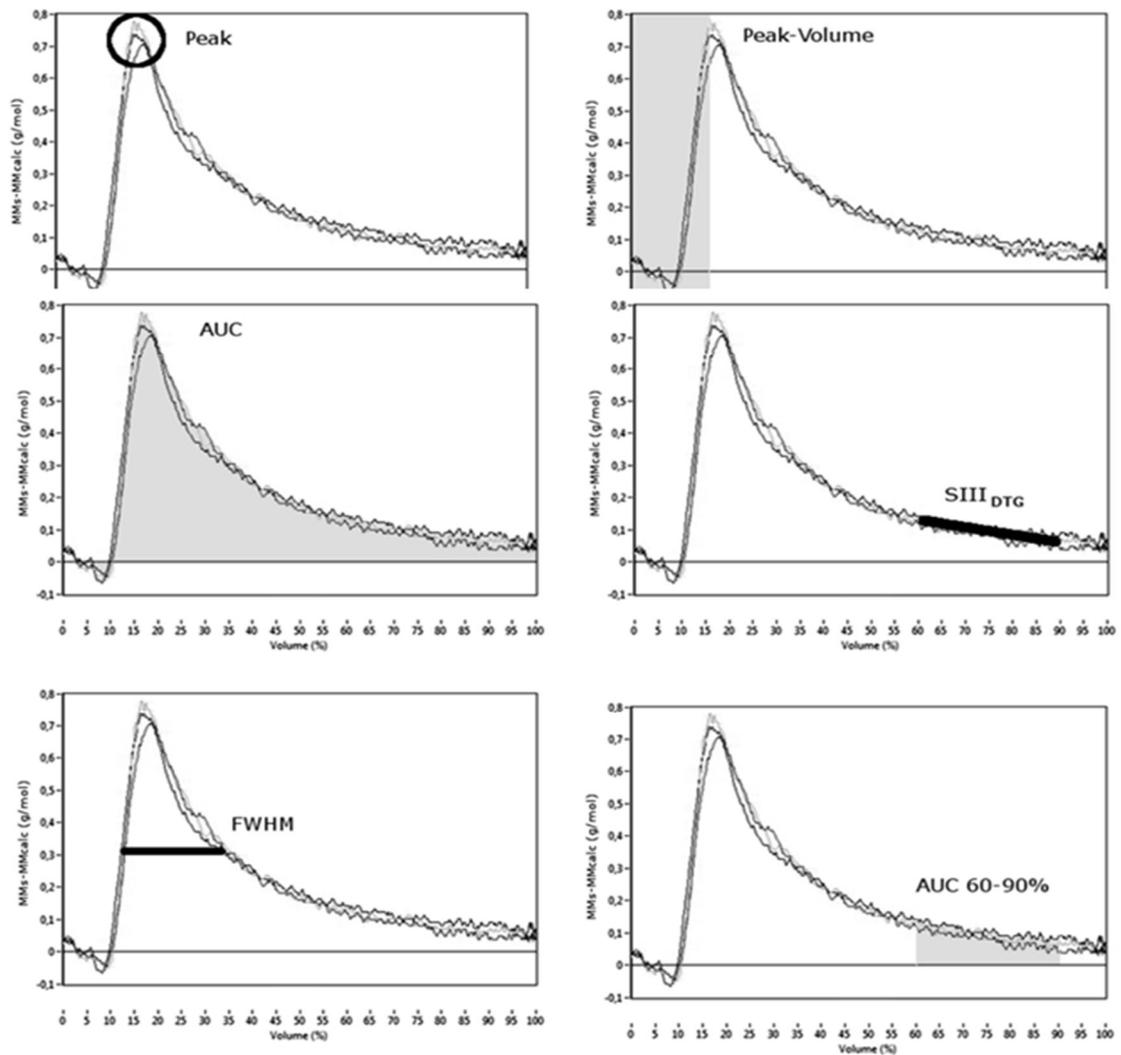
b) zeigt das DTG-SBW Test-Signal. Im oberen Teil das CO<sub>2</sub>-Signal (%) und im unteren Teil das Differenz Signal (MMss-MMcalc, g/mol). In dem Moment der Einatmung des Doppeltracer-Gases (oberer Pfeil) und der nachfolgenden Einatmung liegen zwei Spitzen, erklärt durch Gasdurchmischungsphänomene.

c) zeigt das typische DTG-SBW Signal eines gesunden Erwachsenen. Dabei wird das Expirogramm von CO<sub>2</sub> (%) und MMss-MMcal (g/mol) gegen das ausatmete Volumen (in % des gesamt ausatmeten Volumens)

---

aufgezeichnet. Dabei bezeichnet I den Totraum, die Phase II die Übergangsphase und die Phase III die alveolare Phase.

Der DTG-SBW Test wurde dreimal hintereinander durchgeführt, zwischen den einzelnen Testmessungen musste ein Mindestintervall von zehn Atemzügen mit Raumluft liegen. Als wichtiger Parameter wurde vom MMss- und MMcalc-Expirogramm, der Phase III-Anstieg zwischen 60 % und 90 % des abgeatmeten Volumens ( $S_{III_{DTG}}$ ), bestimmt. Als weitere aus dem DTG-SBW Test abgeleitete Phase III-Parameter wurde der Bereich unter der Kurve, die sogenannte „area under the curve“ zwischen 60 % und 90 % des abgeatmeten Volumens ( $AUC_{60-90}$ ) bestimmt. Aus der Phase II wurden die absolute Spitzen-Konzentration des Signals (Peak), das Peak-Volumen, in % des abgeatmeten Volumen an der Spitze und die area under the curve (AUC) ermittelt. Die Halbwertsbreite wurde als „full width at half maximum“ (FWHM) angegeben. Sie errechnet sich aus der Funktion mit einem Maximum als Differenz zwischen den beiden Argumentwerten, für die die Funktionswerte auf die Hälfte des Maximums abgesunken sind. In Abbildung 11 werden alle aufgezählten DTG-Parameter illustriert.



**Abbildung 11:** DTG-SBW Outcome Parameter (74).

Die Abbildung 11 zeigt die DTG-SBW Outcome Parameter auf einer Ausatemkurve eines gesunden Erwachsenen. Dabei wurden immer 3 Atemkurven bei einem Testdurchlauf aufgezeichnet. MMss-MMcalc (g/mol) wird gegen das ausgeatmete Volumen aufgezeichnet (% des gesamten Volumens). Peak: Absolute Spitzenkonzentration des DTG-SBW-Signals; Peak-Volume: % des ausgeatmeten Volumens an der Spitzen-Konzentration des DTG-SBW Signals; AUC: Area under the curve= Fläche unter der Kurve (DTG-SBW) aufgezeichnet zum ausgeatmeten Volumens; SIII<sub>DTG</sub>: Phase III-Slope des DTG-SBW; FWHM: full width at half maximum= Halbwertsbreite des DTG-SBW

---

Signals; AUC<sub>60-90</sub>: Fläche unter der Kurve zwischen 60-90 % des abgeatmeten Volumens.

### **3.3.4 Durchführung weitere Lungenfunktionstests**

Wir führten die Lungenfunktionstest Spirometrie und Bodyplethysmographie mit einer Standard Lungenfunktions-Ausrüstung (JAEGER® MasterScreen®, Care Fusion, Höchberg) gemäß der anerkannten Standards durch (75–78).

Dabei wurden folgende Werte gemessen und erfasst: Totalkapazität, Residualvolumen, forcierte Vitalkapazität (FVC), inspiratorische Vitalkapazität (IVC), forciertes Expirationsvolumen der ersten Sekunde, maximaler mitexpiratorischer Fluss (MMEF) und funktionelles Residualvolumen. Für alle spirometrisch erhobenen Daten wurden die Referenzwerte der Global Lung Initiative (GLI) herangezogen. Pathologische Werte wurden mit einem Z-score < -1,96 angegeben (79). Die Messung der Diffusionskapazität erfolgte nach den Standards von Cotes et al. (80).

### **3.4 Datenerfassung und statistische Auswertung**

Demographische Daten wie Alter, Größe, Gewicht, Body Mass Index (BMI) wurden als Mittelwert, Standardabweichung (SD) und Variationsbreite angegeben. Die individuellen Daten für alle Gasauswaschtests wurden als mittlere und intraindividuelle Standardabweichung von drei technisch akzeptablen Messungen angegeben. Die Intra-Test-Reproduzierbarkeit wurde als Verteilung (Mittelwert, Standardabweichung) der intraindividuellen Variationskoeffizienten von jeweils 3 Versuchen bestimmt.

Mit Hilfe des Intra-Class-Correlation-Coefficient (ICC, bestimmt in einem two-way mixed-model) beschrieben wir sowohl die Intra-Test Reproduzierbarkeit (3 individuelle Versuche bei einem Besuch), als auch die Inter-Test Reproduzierbarkeit (V1- V4). Die Unterschiede zwischen den Testergebnisse der Besuche wurden graphisch nach der Methode von Bland und Altman beurteilt (81). Quantifiziert wurden die Unterschiede anhand des

---

Wiederholbarkeitskoeffizienten (CR). Dieser berechnet sich aus der Standardabweichung \* 1,96, wobei 1,96 das 97,5 %-Quantil der Normalverteilung ist und die Differenz angibt, die von 95 % der wiederholten Messungen an einer Messeinheit nicht überschritten wird (81). Die Parameter der beiden Gruppen (Gesund vs. COPD) wurden mithilfe des zwei-Stichproben t-test verglichen. Assoziationen zwischen Gasauswaschtest-Parametern, konventionell erhobenen Lungenfunktionsparametern (TLC, RV, FVC, IVC, FEV<sub>1</sub>, MMEF, FRC) und Alter wurden mittels einfacher linearer Regression berechnet (Bestimmtheitsmaß R<sup>2</sup>). Ein p-Wert von 0,05 oder weniger wurde als statistisch signifikant betrachtet. Die statische Auswertung wurde mithilfe des Programmes JMP für Windows (Version 10.0, SAS Institut) durchgeführt.

## **4. Ergebnisse**

### **4.1 Klinische und demographische Daten**

20 Patienten mit stabiler COPD (mittleres Alter 66,2 Jahre, Bereich von 53 bis 83 Jahre) mit einer FEV<sub>1</sub> zwischen 31 - 78 % predicted (pred.) wurden für die Studie untersucht. Von diesen komplettierten 15 die gesamte Studie. 40 gesunde nichtrauchende Erwachsene (mittleres Alter 40,7 Jahre, Bereich von 20 bis 64 Jahre) dienten als Vergleichsgruppe. Alle bis auf zwei Probanden schlossen die Studie mit vier Testdurchläufen ab. Die Probanden der beiden Gruppen wurden nicht gematcht, so bestand der Anteil an Frauen bei der COPD Gruppe nur aus vier Patientinnen, auch bei Gewicht/BMI zeigten sich signifikante Unterschiede in den beiden Gruppen. Die FEV<sub>1</sub> als Marker der herkömmlichen Lungenfunktion lag bei den gesunden Probanden bei 101,0 (% pred.) und den COPD Probanden bei 55,2 (% pred.). Die FVC (% pred.) lag bei den Gesunden bei 102,2 und bei den COPD Probanden bei 83,7. Die DL<sub>CO</sub> als Parameter der Diffusionskapazität lag bei den COPD Patienten bei durchschnittlich 57,5 %. Eine Diffusionsmessung wurde bei den gesunden Probanden nicht durchgeführt. Die klinischen und demographischen Daten von beiden Gruppen sind in Tabelle 6 wiedergegeben.

**Tabelle 6: Klinische und demographische Daten der gesunden und COPD Probanden (74).**

	<b>Gesunde Probanden (n = 40)</b>	<b>COPD Probanden (n = 20)</b>	<b>p-Wert</b>
<b>Alter</b>	40,7 (10,3)	66,2 (10,3)	**
<b>m:f</b>	12 : 28	16 : 04	
<b>Gewicht (kg)</b>	69,0 (13,8)	79,1 (16,7)	*
<b>Größe (cm)</b>	169 (8)	173 (9)	0,068
<b>BMI</b>	24,1 (3,50)	26,3 (4,1)	*
<b>FVC (% pred.)</b>	102,2 (12,1)	83,7 (13,9)	**
<b>Z-Score</b>	0,18 (0,99)	-0,93 (0,91)	**
<b>FEV<sub>1</sub> (% pred.)</b>	101,0 (11,5)	55,2 (13,9)	**
<b>Z-Score</b>	0,06 (0,92)	-2,60 (0,80)	**
<b>MMEF (% pred.)</b>	97,2 (18,2)	26,6 (11,0)	**
<b>Z-Score</b>	-0,14 (0,69)	-2,46 (0,64)	**
<b>DL<sub>co</sub> (% pred.)</b>	n.d.	57,5 (19,4)	
<b>FRC<sub>MBW</sub> (l)</b>	3,21 (0,81)	4,19 (1,27)	*
<b>LCI</b>	6,94 (0,61)	12,23 (2,67)	**
<b>Scond (1/l)</b>	0,028 (0,026)	0,045 (0,034)	*
<b>Scond x Vt</b>	0,029 (0,029)	0,046 (0,034)	0,061
<b>Sacin (1/l)</b>	0,058 (0,028)	0,343 (0,139)	**
<b>Sacin x Vt</b>	0,060 (0,034)	0,355 (0,150)	**
<b>dN<sub>2</sub> (%N<sub>2</sub>/l)</b>	0,99 (0,42)	7,43 (5,38)	**
<b>dN<sub>2</sub> x VC (%N<sub>2</sub>)</b>	3,82 (1,36)	20,60 (6,84)	**
<b>SIII<sub>DTG</sub> (g/mol*l)</b>	-0,206 (0,108)	-0,653 (0,428)	**
<b>SIII<sub>DTG</sub> x Vt (g/mol)</b>	-0,204 (0,091)	-0,635 (0,344)	**
<b>AUC (g*%/mol)</b>	16,39 (5,37)	33,04 (18,59)	**
<b>AUC<sub>60-90</sub> (g*%/mol)</b>	2,69 (1,52)	6,62 (4,92)	*
<b>Peak (g/mol)</b>	0,59 (0,15)	0,77 (0,30)	**
<b>Peak-Volume (%)</b>	19,00 (3,08)	23,86 (5,09)	**
<b>FWHM (%)</b>	19,54 (7,82)	36,71 (11,64)	**

\* p < 0.05; \*\* p < 0.001; n.d. not done.

---

Das Atemmuster ( $V_t$ , Atemfluss) war bei den gesunden Probanden und den COPD Patienten vergleichbar (mittlere  $V_t$  (SD) 1,05 (0,22) l vs. 1,05 (0,21) l; mittlerer expiratorischer Fluss (SD) -0,65 (0,19) l/s vs. -0,69 (0,17) l/s).

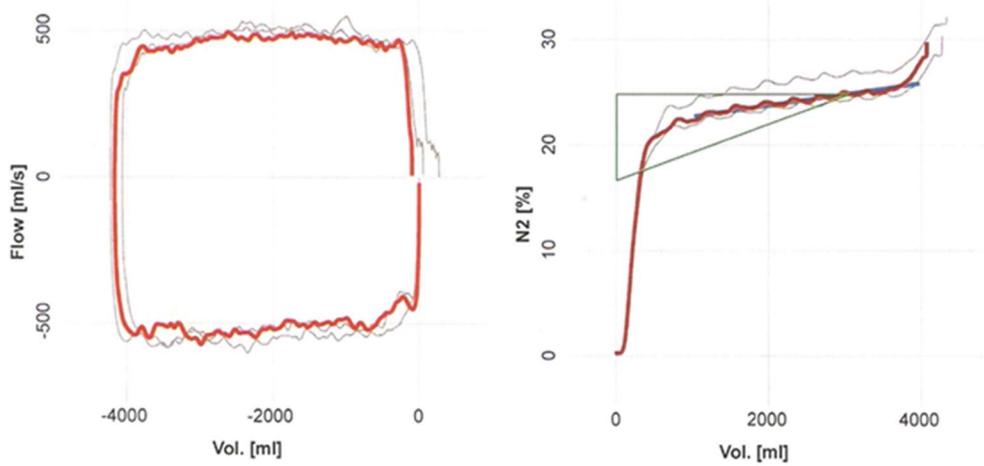
## **4.2 Ergebnisse der einzelnen Gasauswaschtests**

### **4.2.1 N<sub>2</sub>-SBW**

Die Rate an erfolgreich abgeschlossene Testdurchläufe für den N<sub>2</sub>-SBW lag bei 99 % bei den COPD Patienten und bei 95 % bei den gesunden Probanden. Der  $dN_2$  als wichtigster Parameter des Tests lag bei den gesunden Probanden bei 0,99 (%N<sub>2</sub>/l) und bei den COPD Patienten signifikant höher mit 7,43 (%N<sub>2</sub>/l). Die erhobenen Messwerte der N<sub>2</sub>-SBW-Parameter unterschieden sich signifikant bei den COPD Patienten und den gesunden Probanden.

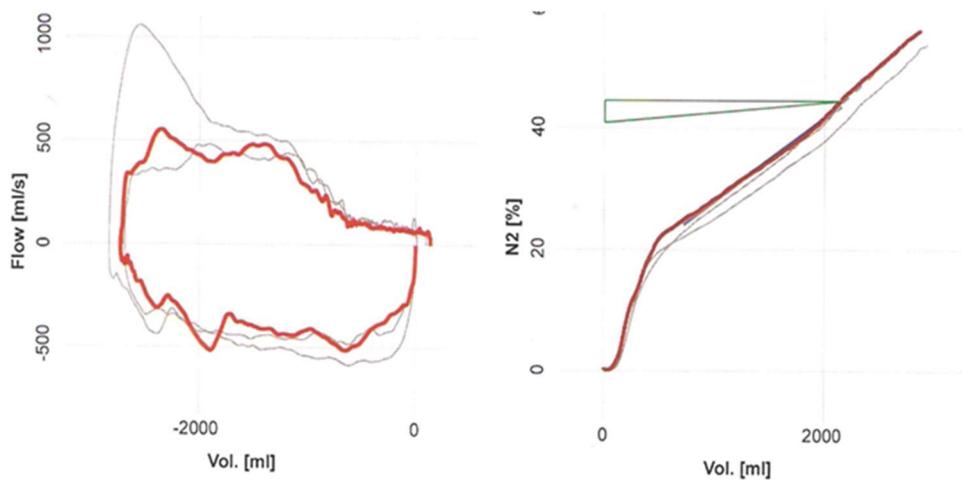
Der klassische N<sub>2</sub>-SBW-Test dauerte bei den gesunden Probanden und den COPD Probanden mit ca. 10 Minuten gleichlang.

Abbildung 12 und 13 zeigen die graphische Darstellung des N<sub>2</sub>-SBW bei einem gesunden Probanden und einem COPD Patienten. Die drei Atemkurven werden übereinander aufgezeichnet.



N2- Einfachatemzug-Washout					
		Pred.	Results	% Pred.	CV%
SIII	[%N2/I]	2.67	1.06	40	5.5
CV	[I]	0.707	0.413	58	12.5
VC	[I]	5.15	4.34	84	2.6

**Abbildung 12:** N<sub>2</sub>-SBW gesunder Proband.



N2- Einfachatemzug-Washout					
		Pred.	Results	% Pred.	CV%
SIII	[%N2/I]	1.68	13.57	806	2.5
CV	[I]	0.794	0.873	110	18
VC	[I]	3.82	2.93	77	3.4

**Abbildung 13:** N<sub>2</sub>-SBW COPD Proband.

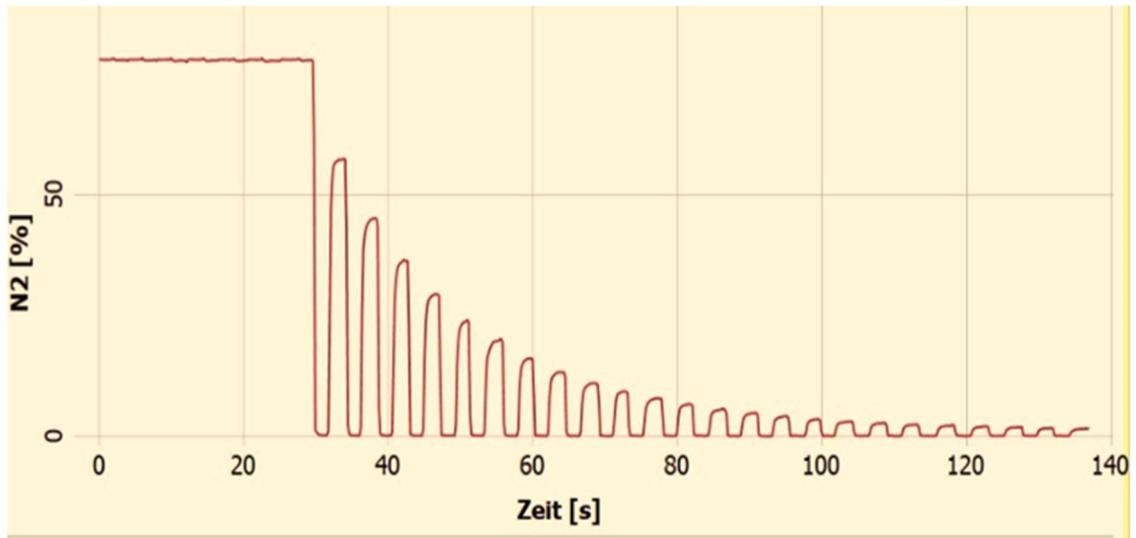
---

#### 4.2.2 N<sub>2</sub>-MBW

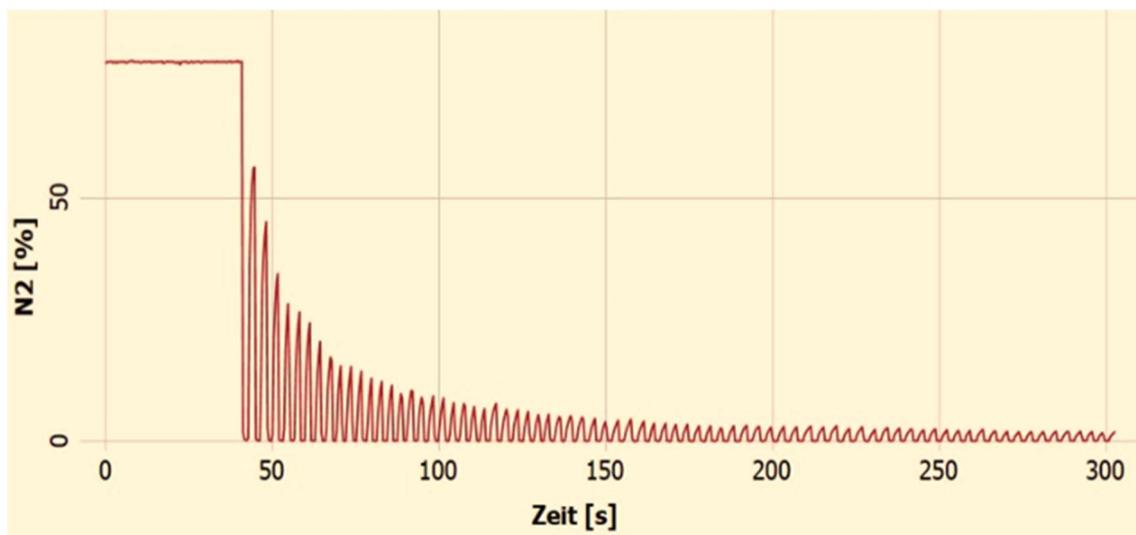
Die erfolgreiche Test-Rate für den N<sub>2</sub>-MBW mit drei technisch akzeptablen Testdurchläufen bei einer Sitzung lag bei 75 % bei den COPD Patienten und bei 88 % bei den gesunden Probanden.

Der LCI lag bei den gesunden Probanden bei 6,94 (Mittelwert) und bei den COPD Patienten signifikant höher mit einem Mittelwert von 12,23. Die erhobenen Messwerte der N<sub>2</sub>-MBW-Parameter unterschieden sich signifikant bei den COPD Patienten und den gesunden Probanden. Ausnahme waren die Werte von Scnd\*Vt die an der Grenze zur Signifikanz lagen (0,029 vs. 0,046, p = 0,061) (siehe auch Tabelle 6). Wir fanden einen altersabhängigen Anstieg des LCI bei den gesunden Probanden ( $r^2 = 0,34$ ,  $p < 0,001$ ,  $LCI = 5,529 + 0,0345 * \text{Alter}$ ). Alle anderen Gasauswaschtest-Parameter, bis auf eine geringe Korrelation zwischen Alter und AUC als Parameter des DTG, korrelierten nicht mit dem Alter. Die Zeitdauer für die Durchführung von drei N<sub>2</sub>-MBW Tests, mit den erforderlichen Pausen zwischen den Tests, lag bei durchschnittlich 20 - 25 Minuten bei den gesunden Probanden und bei über 30 Minuten (bis max. 45 Minuten) bei den COPD Probanden. Bei den COPD Probanden mit fortgeschrittener Erkrankung (GOLD II-III) musste der N<sub>2</sub>-MBW Test oftmals aufgrund der langen Zeitdauer und dem damit verbundenen Unvermögen des korrekten Mundverschlusses über die lange Zeit, abgebrochen werden. Die Abbildungen 14 und 15 zeigen Beispiel N<sub>2</sub>-MBW-Kurven eines gesunden Probanden (oben, Dauer ca. 140 Sek. für den Einzelversuch) und eines COPD Patienten (unten, Dauer für den Einzelversuch ca. 300 Sek.). Zu sehen ist die Auswaschung des in der Lunge befindlichen N<sub>2</sub> bis auf 1/40, bzw. auf 2,5 % der Ausgangskonzentration über die Zeitachse.

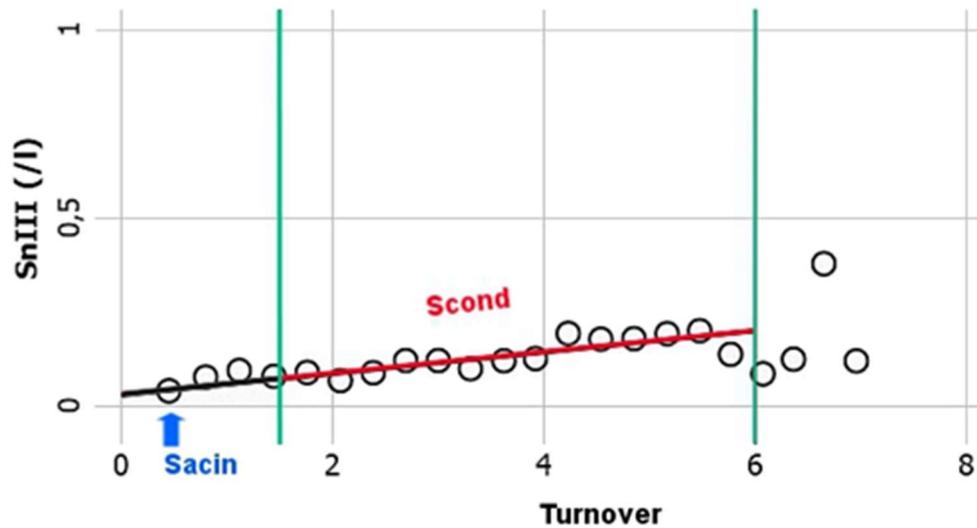
Die Abbildungen 16 und 17 zeigen graphisch für den N<sub>2</sub>-MBW Beispiele aus der Phase III Analyse bei einem gesundem Probanden (oben) und einem COPD-Patient (unten) mit erhöhtem Sacin und erhöhten Scnd-Werten.



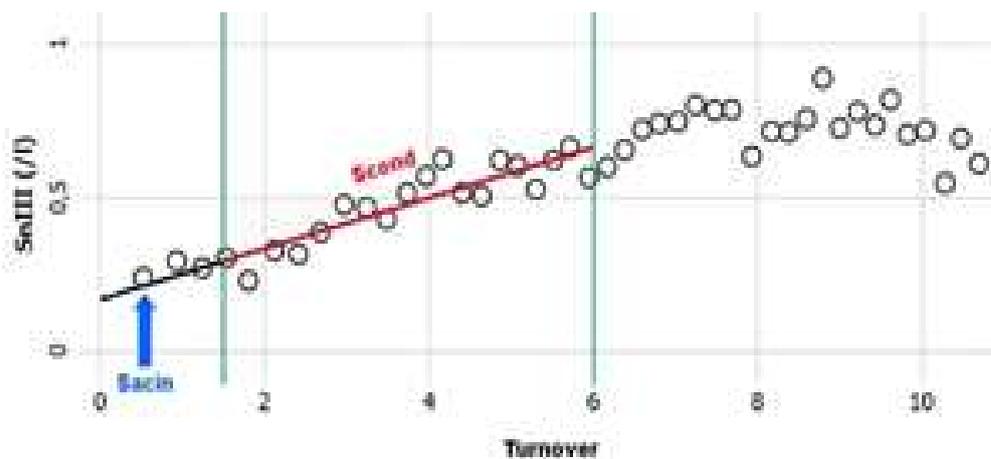
**Abbildung 14:** N<sub>2</sub>-MBW-Kurve gesunder Proband.



**Abbildung 15:** N<sub>2</sub>-MBW-Kurve COPD-Patient.



**Abbildung 16:** N<sub>2</sub>-MBW-Phase III Analyse gesunder Proband.



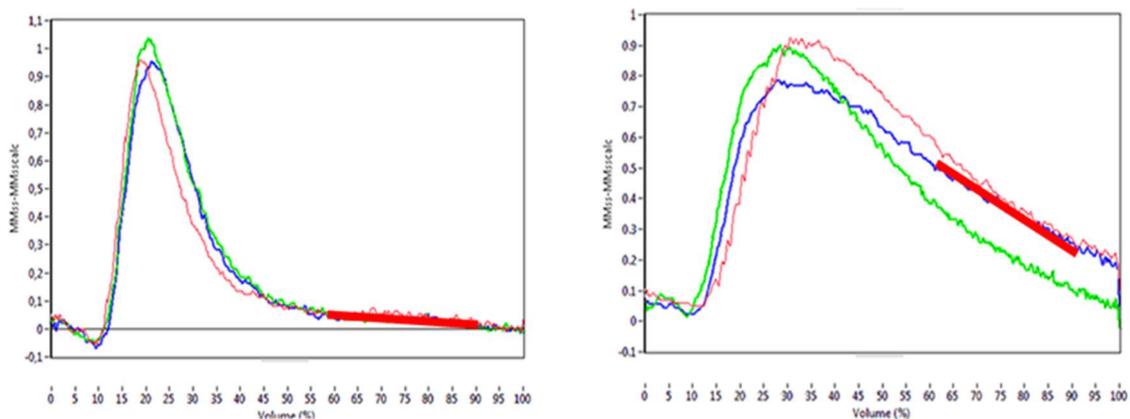
**Abbildung 17:** N<sub>2</sub>-MBW-Phase III Analyse COPD-Patient.

#### 4.2.3 DTG-SBW

Die Rate für einen erfolgreich durchgeführten DTG-SBW Test war sowohl bei den Gesunden mit 97 %, als auch bei den COPD Patienten mit 96 % hoch. Die Gründe für einen nicht abgeschlossenen DTG-SBW Tests gingen in allen Fällen (3 bzw. 4 %) auf technische Fehler zurück.

Alle Parameter, welche den Verlauf der DTG-SBW Kurve beschreiben ( $S_{III_{DTG}} \cdot V_t$ ), AUC,  $AUC_{60-90}$ , Peak, Peak-Volume, FWHM) zeigten einen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Gruppen. So lag die AUC bei 16,39 ( $g^*/mol$ ) (Mittelwert) bei den gesunden Probanden und bei 33,04 ( $g^*/mol$ ) bei den COPD Probanden und der Peak bei 0,59 ( $g/mol$ ) (Gesund) vs. 0,77 ( $g/mol$ ) (COPD). Der Unterschied zwischen  $S_{III_{DTG}}$  und  $S_{III_{DTG}} \cdot V_t$  war klein (mittlere Differenz (SD); 95 % CI: 0,002 (0,049); -0,018 - 0,014  $g/mol \cdot l$  bei den gesunden Probanden; 0,018 (0,146); -0,094 – 0,059  $g/mol \cdot l$  bei den COPD Patienten). Es bestand eine geringe Assoziation zwischen Alter und AUC ( $r^2 = 0,11$ ,  $p < 0,05$ ,  $AUC (g^*/mol) = 9,39 + 0,172 \cdot \text{Alter}$ ). Die weiteren Parameter des DTG-SBW können der Tabelle 6 entnommen werden.

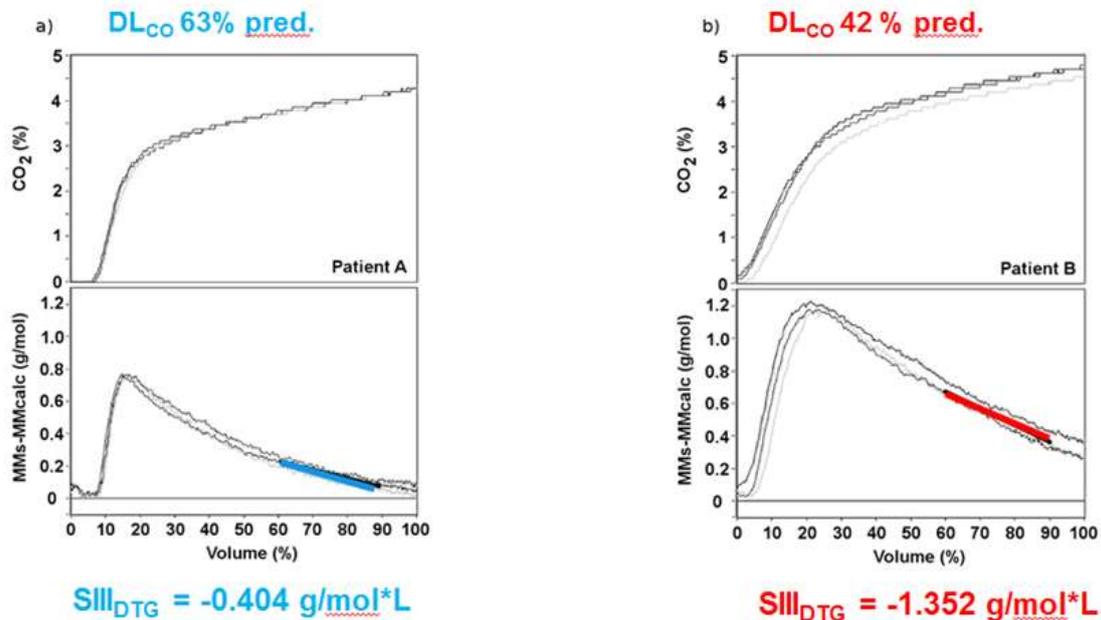
Der DTG-SBW lag mit einer Zeitdauer von ca. 5 Minuten bei beiden Untersuchungsgruppen signifikant unter der Dauer der beiden anderen Gasauswaschtests. Auch diese Zeitangabe bezieht sich auf die Durchführung von drei Testdurchläufen mit den dafür notwendigen Pausenzeiten.



**Abbildung 18:** Typische DTG-SBW Signale bei einem Gesunden (links) und bei einem COPD Probanden (rechts), Hauptparameter  $S_{III_{DTG}}$  rot markiert.

M, 73 yrs. FEV<sub>1</sub> 40% pred.

M, 65 yrs. FEV<sub>1</sub> 40% pred.



**Abbildung 19:** DTG-SBW Signale von 2 COPD Patienten mit unterschiedlichem Emphysem Anteil.

Der Kurvenverlauf von SIII<sub>DTG</sub> ist steiler und die AUC ist höher im Vergleich zu den Kurvenverläufen der gesunden Nichtraucher. Patient B (rechte Seite) mit einer niedrigen DL<sub>CO</sub>, wahrscheinlich zurückgehend auf einen höheren Emphysem Anteil, zeigt einen höheren Slope (SIII<sub>DTG</sub>) und eine höhere AUC, als Patient A (linke Seite) mit einer höheren DL<sub>CO</sub> (siehe Abb. 19). Beide Patienten haben eine vergleichbare Atemflusslimitation mit einer FEV<sub>1</sub> von 40 %. Bei den COPD Patienten korrelierte die DL<sub>CO</sub> als Marker für die Emphysem Ausdehnung mit Sacin\*Vt ( $r^2 = 0,41$ ,  $p < 0,01$ ), dN<sub>2</sub> ( $r^2 = 0,21$ ,  $p < 0,05$ ) und dem Haupt-DTG-SBW-Parameter (SIII<sub>DTG</sub> (\* Vt):  $r^2 = 0,33$  (0,31),  $p < 0,05$ ; AUC:  $r^2 = 0,22$ ,  $p < 0,05$ ). FEV<sub>1</sub> als Parameter für die Atemflussobstruktion zeigte keine Assoziation zu SIII<sub>DTG</sub> (\*Vt) oder anderen DTG-SBW-Werten (siehe auch Tabelle 7 und 8).

**Tabelle 7 und 8: Assoziation zwischen Gasauswaschparametern und herkömmlichen Lungenfunktionsparametern bei COPD (74).**

Die Analyse wurde aus den mittleren Baseline-Werten der 20 COPD-Patienten durchgeführt (einfache lineare Regression). Der Determinationskoeffizient  $R^2$  aller statistisch signifikanten Assoziationen wird in den beiden Tabellen angegeben (n.s. = nicht signifikant).

**Tabelle 7: Assoziation zwischen Gasauswaschparametern und DL<sub>CO</sub> (FEV<sub>1</sub>).**

Parameter	DL <sub>CO</sub> (% pred.)	FEV <sub>1</sub> (% pred.)
<b>LCI</b>	n.s.	n.s.
<b>Scond x Vt</b>	n.s.	n.s.
<b>Sacin x Vt</b>	0,41 (0,003)	0,33 (0,007)
<b>dN<sub>2</sub> (%N<sub>2</sub>/l)</b>	0,21 (0,04)	0,26 (0,02)
<b>SIII<sub>DTG</sub> (g/mol*l)</b>	0,33 (0,008)	n.s.
<b>SIII<sub>DTG</sub> x Vt (g/mol)</b>	0,31 (0,01)	n.s.
<b>AUC (g*/%/mol)</b>	0,22 (0,037)	n.s.
<b>AUC<sub>60-90</sub> (g*/%/mol)</b>	0,24 (0,03)	n.s.
<b>FWHM (%)</b>	0,41 (0,002)	n.s.
<b>Peak -Volume (%)</b>	0,33 (0,008)	n.s.
<b>Peak (g/mol)</b>	n.s.	n.s.

**Tabelle 8: Assoziation zwischen DTG-SBW-Parametern und N<sub>2</sub>-Gasauswaschtest-Parametern.**

Parameter	LCI	Scond x Vt	Sacin x Vt	dN <sub>2</sub>
<b>SIII<sub>DTG</sub> (g/mol*l)</b>	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
<b>SIII<sub>DTG</sub> x Vt (g/mol)</b>	n.s.	n.s.	0,24 (0,03)	n.s.
<b>AUC (g*/%/mol)</b>	n.s.	n.s.	0,25 (0,024)	n.s.

<b>AUC<sub>60-90</sub> (g*/%/mol)</b>	n.s.	n.s.	0,21 (0,04)	n.s.
<b>FWHM (%)</b>	n.s.	n.s.	0,25 (0,03)	n.s.
<b>Peak-Volume (%)</b>	n.s.	n.s.	n.s.	0,29 (0,01)
<b>Peak (g/mol)</b>	n.s.	n.s.	0,21 (0,04)	n.s.

Der Vergleich der DTG-SBW-Parameter mit Stickstoffauswasch-Parameter zeigt, dass  $S_{III_{DTG}} \times V_t$  sowie weitere Parameter des DTG-SBW mit  $S_{acin} \times V_t$  assoziiert sind (Tabelle 8).

Im Vergleich der Gasauswaschindices mit der herkömmlichen Lungenfunktionsprüfung konnten wir aufzeigen, dass  $S_{III_{DTG}}$  und weitere Parameter des DTG-SBW mit  $DL_{CO}$  assoziiert sind, nicht jedoch mit der  $FEV_1$ .

#### 4.3 Variabilität und Reproduzierbarkeit

Der mittlere Intra-Test-Variationskoeffizient lag für drei einzelne Messungen bei den gesunden Probanden bei 4,4 % für den LCI (5,3 % bei den COPD Patienten), 7,7 % für  $FRC_{MBW}$  (5,9 % bei den COPD Patienten), 16,4 % für  $dN_2$  (7,8 % bei den COPD Patienten) und 22,2 % für  $Slope-III_{DTG}$  (10,1 % bei den COPD Patienten) (Tab. 9).

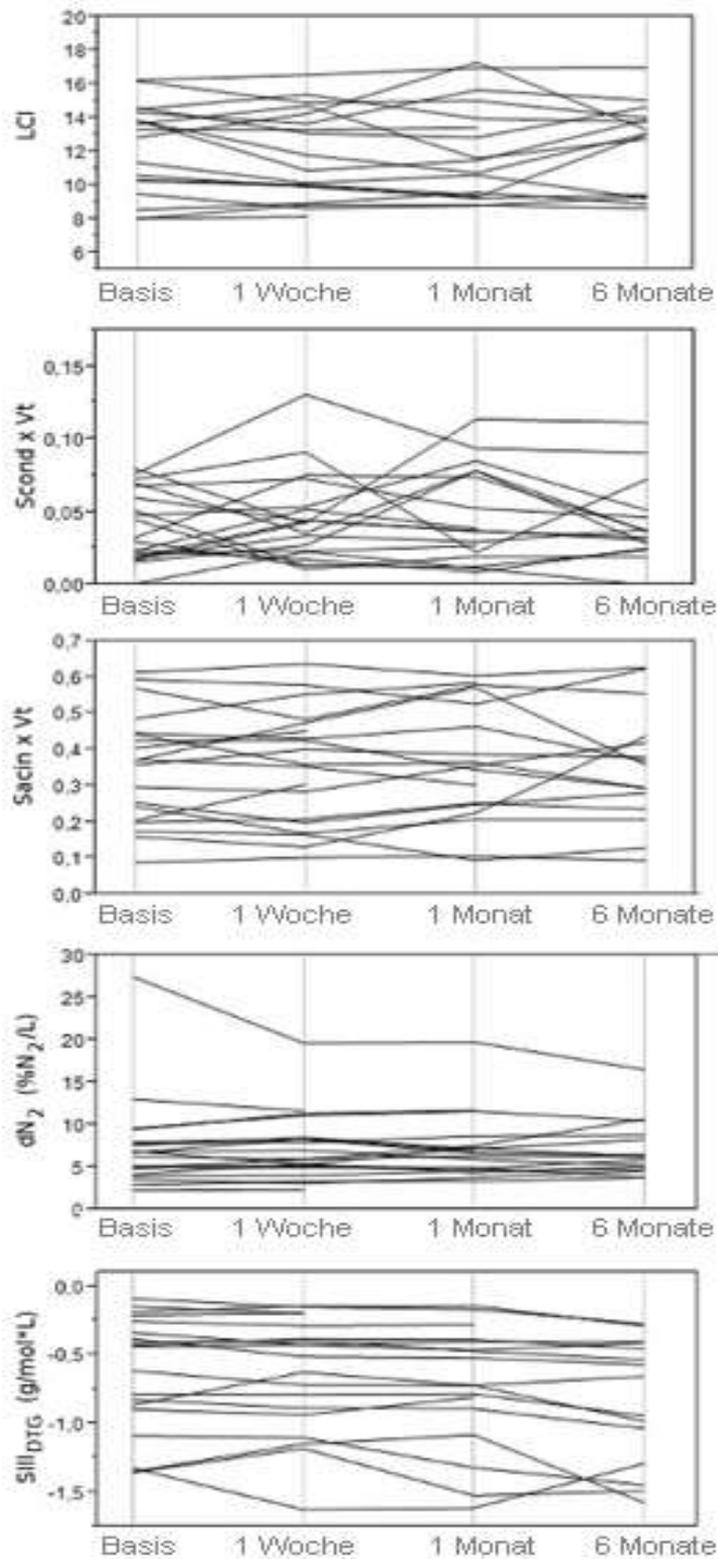
**Tabelle 9:** Ergebnisse der Gasauswaschtests und Intra-Test-Reproduzierbarkeit bei den COPD Probanden (74).

	<b>Basistest</b>	<b>1 Woche</b>	<b>1 Monat</b>	<b>6 Monate</b>	<b>Durchschnittliche CV % (SD)</b>	<b>ICC</b>
	<b>n = 20</b>	<b>n = 19</b>	<b>n = 17</b>	<b>n = 15</b>		
<b>LCI</b>	12,23 (2,67)	12,40 (3,48)	12,07 (2,88)	12,42 (2,62)	5,3 (5,4)	0,89
<b>FRC<sub>MBW</sub> (l)</b>	4,19 (1,27)	4,30 (1,00)	4,13 (1,23)	4,20 (1,66)	5,9 (5,8)	0,87
<b>Scond (1/l)</b>	0,045 (0,034)	0,042 (0,031)	0,050 (0,035)	0,047 (0,032)	45,1 (32,0)	0,67
<b>Scond x Vt</b>	0,046 (0,034)	0,045 (0,031)	0,048 (0,033)	0,043 (0,029)	29,8 (22,4)	0,66

<b>Sacin (1/l)</b>	0,343 (0,139)	0,330 (0,143)	0,348 (0,153)	0,384 (0,156)	16,3 (15,8)	0,86
<b>Sacin x Vt</b>	0,355 (0,150)	0,354 (0,160)	0,367 (0,167)	0,354 (0,162)	8,8 (8,5)	0,87
<b>dN<sub>2</sub> (%N<sub>2</sub>/l)</b>	7,43 (5,38)	7,40 (4,01)	7,44 (4,00)	7,17 (3,41)	7,8 (5,7)	0,81
<b>dN<sub>2</sub> x VC (%N<sub>2</sub>)</b>	20,60 (6,84)	22,01 (7,92)	22,18 (7,49)	21,46 (6,80)	7,1 (5,1)	0,83
<b>SIII<sub>DTG</sub> (g/mol *l)</b>	-0,653 (0,428)	-0,635 (0,419)	-0,721 (0,447)	-0,820 (0,459)	10,1 (9,0)	0,95
<b>SIII<sub>DTG</sub> x Vt (g/mol)</b>	-0,630 (0,344)	-0,601 (0,325)	-0,664 (0,305)	-0,726 (0,353)	9,6 (9,8)	0,96
<b>AUC (g*/%/mol)</b>	33,07 (18,59)	32,32 (18,36)	24,50 (18,46)	25,43 (20,18)	7,9 (14,1)	0,97

Bei den COPD Probanden zeigte sich eine relativ hohe Variabilität für Scond (\*Vt) mit einem mittleren CV von 45,1 % (29,8 %), eine etwas niedrigere für Sacin (\*Vt) (mittlere CV von 16,3 % (8,8 %)). Für die zusätzlichen DTG-Parameter zeigte sich ein akzeptabler Bereich des Variationskoeffizienten zwischen 7 % und 18 %.

Der Intra-Visit-ICC lag bei > 0.7 für alle Gasauswaschtest-Parameter, mit Ausnahme von Sacin (\*Vt) bei den gesunden Probanden (ICC = 0,42 (0,52)) und Scond (\*Vt) bei beiden Gruppen (ICC = 0,44 (0,62) bei den gesunden Probanden und 0,67 (0,66) bei den COPD Patienten). Der Intra-Visit-ICC war vergleichbar für die unkorrigierten und die „Volumen“-korrigierten SIII-Werte bei beiden Gruppen, so lag die ICC für SIII<sub>DTG</sub> bei den COPD Patienten bei 0,93 und die „Volumen“-korrigierte ICC für SIII<sub>DTG</sub> bei 0,95 (vergleiche Tabelle 9). Die mittlere Differenz war klein zwischen den Tests für alle drei Gasauswaschtests, sowohl die Kurzzeit- als auch die Langzeit-Reproduzierbarkeit betreffend (siehe auch Abb. 20).



**Abbildung 20:** Reproduzierbarkeit der wichtigsten Gasauswaschtest-Parameter bei den COPD Probanden (74).

Der Inter-Visit-ICC lag bei  $> 0.75$  für alle Gasauswasch-Parameter mit Ausnahme der  $N_2$ -MBW-Slope III-Parameter (Scond (\*Vt), Sacin (\*Vt)) bei den gesunden Probanden und Scond (\*Vt) bei den COPD Patienten. Die Inter-Visit Variabilität war vergleichbar bei den nicht korrigierten und den "Volumen" korrigierten SIII-Parametern. Der CR-Bereich für den LCI lag bei den gesunden Erwachsenen zwischen 0,83 - 0,96 (entsprechend 11,9 - 13,8 % des Mittelwertes von LCI). Der CR für  $dN_2$  lag zwischen 0,39 und 0,89 (%  $N_2/l$ ) (39,6 – 89,5 % des Mittelwertes für  $dN_2$ ) und für  $SIII_{DTG}$  zwischen 0,098 und 0,140 g/mol\*l (47,6 – 67,8 % des Mittelwertes für  $SIII_{DTG}$ ). Bei den COPD Patienten lag der absolute CR höher für alle Gasauswasch-Parameter, mit Ausnahme von Scond (\*Vt), dort lag er zwischen 0,037 und 0,056 (79,8 – 121,8 % des Mittelwertes für Scond (\*Vt)).

**Tabelle 10:** Inter-Visit Reproduzierbarkeit der wichtigsten Gasauswaschtest-Parameter bei den COPD Probanden (74).

	Mittelwertdifferenz (SD)	CR Absolut	CR (% Durchschnitt)	ICC gesamt
<b>LCI</b>				
Basistest – 1 Woche	0,38 (1,14)	2,24	18,3	
Basistest – 1 Monat	0,42 (1,75)	3,44	28,1	
Basistest – 6 Monate	0,16 (1,17)	2,29	18,7	0,86
<b>Scond (1/l)</b>				
Basistest – 1 Woche	-0,003 (0,025)	0,048	106,7	
Basistest – 1 Monat	0,001 (0,029)	0,056	124,4	
Basistest – 6 Monate	-0,004 (0,020)	0,037	82,2	0,71
<b>Scond x Vt</b>				
Basistest – 1 Woche	-0,004 (0,028)	0,054	117,2	

Basistest – 1 Monat	-0,007 (0,029)	0,056	121,8	
Basistest – 6 Monate	0,001 (0,019)	0,037	79,8	0,67
<b>Sacin (1/l)</b>				
Basistest – 1 Woche	0,010 (0,053)	0,104	30,2	
Basistest – 1 Monat	-0,003 (0,081)	0,159	46,6	
Basistest – 6 Monate	-0,045 (0,107)	0,210	61,1	0,80
<b>Sacin x Vt</b>				
Basistest – 1 Woche	-0,001 (0,055)	0,108	30,3	
Basistest – 1 Monat	-0,007 (0,075)	0,148	41,6	
Basistest – 6 Monate	-0,005 (0,101)	0,199	56,0	0,86
<b>dN<sub>2</sub> (%N<sub>2</sub>/l)</b>				
Basistest – 1 Woche	0,11 (2,08)	4,07	54,8	
Basistest – 1 Monat	0,05 (2,19)	4,29	57,7	
Basistest – 6 Monate	0,22 (3,32)	6,51	87,6	0,89
<b>SIII<sub>DTG</sub> (g/mol*I)</b>				
Basistest – 1 Woche	0,007 (0,122)	0,240	36,8	
Basistest – 1 Monat	0,040 (0,136)	0,266	40,7	
Basistest – 6 Monate	0,125 (0,149)	0,293	44,9	0,93
<b>SIII<sub>DTG</sub> x Vt (g/mol)</b>				
Basistest – 1 Woche	0,013 (0,092)	0,180	285	
Basistest – 1 Monat	0,039 (0,082)	0,161	25,5	
Basistest – 6 Monate	0,094 (0,116)	0,228	36,2	0,95
<b>AUC (g*%/mol)</b>				

---

Basistest – 1 Woche	-0,01 (4,09)	8,01	24,2	
Basistest – 1 Monat	0,10 (3,59)	7,04	21,3	
Basistest – 6 Monate	-1,32 (4,76)	9,33	28,3	0,97

## 5. Diskussion

### 5.1 Gasauswaschtests bei COPD

Ein Goldstandard zur funktionellen Erfassung der Beteiligung der kleinen Atemwege bei COPD existiert bislang nicht. Die kleinen Atemwege galten bisher als eine „silent zone“ der Lunge (25,26). Zur weiteren Frühdiagnostik wurden Studien mit dem Ziel durchgeführt, Raucher zu erkennen, die besonders anfällig für eine chronische Atemwegserkrankung sind. Es konnte in einer Studie, welche mit Rauchern mittleren Alters (durchschnittlich 62,5 Jahre alt) über insgesamt 13 Jahre durchgeführt wurde, gezeigt werden, dass ein Teil der Raucher ein hohes Risiko für die Entwicklung einer COPD hatten. Diese waren gekennzeichnet durch ein niedriges Verhältnis der  $FEV_1/VC$  und einem hohem Stickstoff-Anstieg  $dN_2$  (als Parameter des einfachen Stickstoffauswaschtest gemessen mittels Massenspektrometer) (33).

In einer Studie wurde ein Zusammenhang zwischen dem Progress der COPD und den histologischen Veränderungen der kleinen Atemwege gezeigt. Es besteht eine Assoziation zwischen der Verdickung der Atemwegswand mit Hypertrophie der glatten Muskulatur und Fibrose, der zunehmenden Füllung des Atemwegslumen mit Mukus und dem Progress der COPD (11). McDonough et al. konnten in ihrer Studie einen Zusammenhang zwischen der Obstruktion der mittleren und kleinen Atemwege und dem emphysematösen Umbau der Lunge bei COPD zeigen. Dabei wurde mittels Computertomographie in hochauflösender Technik (HR-CT) die Reduktion der terminalen Bronchiolen bei fortschreitender COPD, GOLD Klassifikation I bis IV, aufgezeigt. Zusätzlich

---

wurde mittels histologischer Analyse die Anzahl der kleinen Atemwege pro Quadratzentimeter berechnet. Es wurde die Hypothese aufgestellt, dass vor dem Auftreten der emphysematösen Zerstörung des Lungengewebes bei COPD eine Reduktion der kleinen Atemwege auftritt (22). In unserer Studie erwiesen sich die Gasauswaschtests als praktikable Messmethode bei COPD Patienten. Es zeigte sich eine hohe Erfolgsrate aller Tests mit Ausnahme des N<sub>2</sub>-MBW aufgrund seiner langen Testdauer. Die Zeitproblematik bei der Durchführung des MBW wurde auch in vorangegangenen Studien thematisiert. Singer et al. konnten aber zeigen, dass eine akzeptable LCI Messung bei untrainierten Mukoviszidose Patienten in ein bis sechs Minuten möglich war. Die geforderten drei Messungen erreichten 85 % der Kinder in 20 Minuten (82).

Auch in unserer Studie lag die Zeitdauer des N<sub>2</sub>-MBW (für 3 Tests mit den dazu notwendigen Pausen) bei den COPD Probanden bei über 30 Minuten. Aufgrund der langen Zeitdauer wurde der Test oftmals von den Patienten abgebrochen und entsprechend lagen die Erfolgszahlen für den vollständig abgeschlossenen N<sub>2</sub>-MBW Testdurchlauf nur bei 75 % bei den COPD Probanden. In erfahrenen Zentren sind bereits zwei technisch akzeptable N<sub>2</sub>-MBW -Tests ausreichend um einen LCI mit ausreichender Sensitivität zu berechnen (83). Aufgrund der langen Dauer des Tests wurden schon Methoden beschrieben um den LCI bereits nach Auswaschung von einem Zwanzigstel der Stickstoffkonzentration bzw. des Tracer-Gases bei pädiatrischen Mukoviszidose Patienten zu bestimmen (84).

DTG-SBW kann die Möglichkeit bieten, die Beteiligung der peripheren Atemwege bei verschiedenen Erkrankungen wie Asthma bronchiale, COPD und Mukoviszidose aufzuzeigen. Zudem ist der Test einfacher und deutlich schneller durchführbar als der klassische N<sub>2</sub>-MBW. Im Gegensatz zum klassischen N<sub>2</sub>-SBW wird kein Vitalkapazitätsmanöver sondern Ruheatmung vorausgesetzt. Somit ist der DTG-SBW ein patientenfreundliches Testverfahren.

Der neue DTG wurde in einer Studie mit 118 Kindern (davon 66 mit Mukoviszidose) im Vergleich zu dem N<sub>2</sub>-MBW durchgeführt. Der mittels DTG-SBW erhobene Parameter SIII<sub>DTG</sub> zeigte eine Assoziation zum LCI und zu Sacin, wohingegen keine Korrelation zu Scond bestand. Genau diese Feststellungen

---

konnten wir mit unserer Studie bestätigen. Ventilationsinhomogenitäten in der Nähe des Azinuseinganges können mittels  $S_{III_{DTG}}$  auf einfache und schnelle Weise aufgezeigt werden (73).

Gasauswaschtests eignen sich somit potentiell für die Frühdiagnostik des Lungenemphysems. Bei fortgeschrittenen Erkrankungen dagegen sind Gasauswaschtests aufgrund der langen Testdauer nicht mehr praktikabel.

## **5.2 Ergebnisse der Gasauswaschtests bei COPD und Assoziation zur herkömmlichen Lungenfunktion**

Dies ist die erste Studie, die mithilfe kommerziell erhältlicher Geräte aufzeigen konnte, dass bei COPD mit moderater Atemflusslimitation die klassischen Parameter der globalen und azinären VI signifikant erhöht sind: Der LCI war gegenüber Gesunden signifikant erhöht (6,94 vs. 12,23),  $dN_2$  und Sacin zeigten sich ebenfalls signifikant höher bei den COPD Patienten. Es zeigte sich in diesem Punkt eine Übereinstimmung zu den wenigen zuvor publizierten Daten bei COPD (85–88).

In den wenigen Gasauswasch-Studien mit Patienten mit COPD konnte gezeigt werden, dass Sacin mit Lungenfunktionstests, insbesondere der Diffusionskapazität, welche die distale azinäre Lungenfunktion widerspiegelt, korreliert. Des Weiteren konnte eine Korrelation zwischen  $S_{cond}$  und den eher proximalen Markern  $FEV_1$  und  $MEF_{25}$  aufgeführt werden (86). In unserer Arbeit zeigten  $dN_2$  und Sacin als einzige Indices einen signifikanten Zusammenhang sowohl zur  $DL_{CO}$  als auch zur  $FEV_1$ , (siehe auch Tabelle 7) wohingegen der globale Parameter LCI keinen Zusammenhang zu herkömmlichen Lungenfunktionsparametern aufwies.

Dies ist die erste Studie, welche Ventilationsinhomogenitäten über einen neuen DTG-SBW-Test mit der Messung von molaren Massensignalen bei COPD nachweist: Das DTG-SBW-Signal der COPD Patienten unterscheidet sich erheblich von dem Signal der gesunden Nichtraucher (vergleiche auch Abb. 18). Alle Indices des DTG-SBW waren signifikant abweichend von der gesunden

---

Kontrollgruppe,  $S_{III_{DTG}}$  war signifikant steiler als bei der gesunden Kontrollgruppe (-0,457 vs. -0,088 g/mol\*l) und korrelierte mit LCI und Sacin als Marker für globale und azinäre VI (73). Insgesamt scheint das DTG-SBW Signal bei unseren COPD Patienten vergleichbar mit dem erhobenen Signal von Kindern mit Mukoviszidose zu sein (73). In unserer Studie zeigten COPD Probanden mit einer niedrigen  $DL_{CO}$ , wahrscheinlich zurückgehend auf einen höheren Emphysem Anteil, einen höheren Slope ( $S_{III_{DTG}}$ ) und eine höhere AUC, als Patienten mit einer höheren  $DL_{CO}$ . Eine vorangehende Studie konnte, mittels Massenspektrometer gemessenen He/SF<sub>6</sub>-Gasauswaschtest, bei 27 erwachsenen Rauchern zeigen, dass mithilfe des SF<sub>6</sub>-He-Slope unterschieden werden konnte zwischen Probanden mit und ohne histologisch gesichertem Emphysem. Dabei musste eines von mehreren tidalen Atemmanövern durchgeführt werden (FRC + Vt von 1,5 l) (63). Der globale VI Index N<sub>2</sub>-Slope (N<sub>2</sub>-SBW) zeigte sich im Gegensatz dazu nicht signifikant unterschiedlich bei Probanden mit und ohne Emphysem (63).

Informationen über die Lokalisation der Ventilationsinhomogenitäten bei COPD können insbesondere für die frühe Phänotypisierung (frühe Diagnose eines Emphysems) interessant sein. So könnte in der Zukunft gerade dem Raucher mit einer normalen Lungenfunktion, durch den frühen Nachweis von pathologischer azinärer VI, das Risiko für eine Entwicklung eines Emphysems aufgezeigt werden. Verbanck et al. konnten zeigen, dass bereits nach 10 - 20 PY bei Probanden mit normaler FEV<sub>1</sub> schon pathologische Werte von Sacin und Scond bestanden (69). Schon eine Nikotinabstinenz von zwölf Monaten erbrachte bei den Probanden eine Reduktion der erhöhten Scond Werte um 30 %, wohingegen keine Veränderungen bei Sacin aufgezeigt werden konnte. Somit wurde geschlussfolgert, dass initial eine Reversibilität in den konduktiven Atemwegen bei durch Rauchen verursachten Lungenschäden besteht (89).

In einer anderen Studie konnte gezeigt werden, dass es bei Patienten mit COPD zu keiner Verbesserung der Phase III-Parameter nach einer sechswöchigen Behandlung mit Tiotropiumbromid kam. Die aber belegte Verbesserung der FEV<sub>1</sub> könnte so indirekt eine Schlussfolgerung über den Wirkort von Tiotropium

---

zulassen (87). In den genannten Studien mit COPD Patienten wurden keine Angaben zum LCI gemacht.

Inhalative Kortikosteroide (ICS) sind bei COPD weniger effektiv als bei Asthma bronchiale, einer der Gründe dafür kann die Partikelgröße der benutzten ICS sein (90). Einige wenige Studien untersuchten den Effekt von extrafeinen ICS Partikeln bei COPD. John et al. konnten eine Reduktion der Überblähung (mit dem zugezogenen Parameter RV/TLC%) durch die Benutzung von Beclomethason (mit extrafeinen Partikeln) bei einer kleinen Studie mit elf COPD Patienten nachweisen (91). In einer anderen Studie konnte eine geringfügige Verbesserung der FEV<sub>1</sub>, sowie eine Symptomverbesserung, durch Beclomethason im Vergleich zu Budenosid oder Fluticason (mit normaler Partikelgröße) gezeigt werden (92). Mit den bisher zur Verfügung stehenden Medikamenten ist die COPD nicht ausreichend behandelbar und die Erkrankung verläuft in der Regel trotz therapeutischer Maßnahmen progredient. Die Entwicklung von Medikamenten, die die Erkrankung bedeutend beeinflussen und damit die Progression stoppen können, setzt ein umfangreiches Wissen über die Physiologie und Morphologie und damit auch über das Ausmaß der Beteiligung der kleinen Atemwege bei der Erkrankung voraus. Die in unserer Studie durchgeführten Gasauswaschtests sind geeignet um die Beteiligung der kleinen Atemwege bei COPD aufzuzeigen.

### **5.3 Reproduzierbarkeit der Gasauswaschtests bei COPD**

Der LCI zeigt bei unseren Daten, in Übereinstimmung zu anderen Veröffentlichungen, eine geringe Intra-Visit Variabilität gemessen mit dem Variationskoeffizienten (durchschnittlich CV < 5 % bei den gesunden Probanden) (53,93). Die Intra-Visit CV der DTG-SBW-Parameter liegt zwischen 7 und 23 % (22,2 % für SIII<sub>DTG</sub>). In Übereinstimmung mit unseren Daten lag die Intra-Test-Variabilität von SIII<sub>DTG</sub> bei gesunden Kindern und Kindern mit Mukoviszidose zwischen 18,5 % und 23,9 % (73). Im Gegensatz dazu zeigten die Phase III-Parameter des N<sub>2</sub>-MBW (Scond und Sacin) eine deutlich höhere Intra-Visit-CV. Besonders bei gesunden Erwachsenen mit Werten nahe Null führen bereits

---

kleine Veränderungen der SIII zu hohen CV-Werten. Bei den COPD Patienten zeigten sich die CV der Phase III-Parameter deutlich niedriger, wahrscheinlich ist dieses zurückzuführen auf die höheren Absolut-Werte. Dieses Phänomen konnte bereits von Horsley et al. beobachtet werden. Dort zeigten sich die CV der Intra-Visit Wiederholungen von  $S_{\text{cond}} \cdot V_t$  niedriger bei den an Mukoviszidose erkrankten Kindern im Vergleich zu den gesunden Testpersonen (32,7 % vs. 59,5 %). Die Gesamt-Variabilität der SIII-Parameter war vergleichbar mit unseren Daten (72). Zur besseren Vergleichbarkeit der Variabilität von unseren Daten berechneten wir auch den ICC. Die Intra-Visit Reproduzierbarkeit gemessen mithilfe des ICC war gut ( $> 0,7$ ) für die meisten der Gasauswaschtest-Parameter in beiden Gruppen, mit Ausnahme von den SIII-Parameter des  $N_2$ -MBW bei den gesunden Testpersonen und  $S_{\text{cond}} \cdot V_t$  bei den COPD Patienten (ICC 0,42 – 0,66). Die Langzeitreproduzierbarkeit der meisten Gasauswaschtest-Parameter war über einen Zeitraum von sechs Monaten gut (ICC  $> 0,75$ ), mit Ausnahme von  $S_{\text{cond}} \cdot V_t$  in beiden Gruppen und  $S_{\text{acin}} \cdot V_t$  bei den gesunden Probanden. In einer anderen Studie wird eine bessere Reproduzierbarkeit von  $S_{\text{acin}}$  und  $S_{\text{cond}}$  (ICC 0,78 – 0,95) bei vergleichbarer Reproduzierbarkeit von LCI (ICC 0,70 – 0,91) berichtet. Diese Studie wurde mit 21 Probanden über einen Zeitraum von 8 Tagen durchgeführt und im Gegensatz zu unserer Studie wurde der  $N_2$ -MBW mit einem festgelegten Atemprotokoll von 1 l durchgeführt. Vielleicht kann dieses fixe Atemprotokoll zumindest teilweise die geringere Variabilität der SIII-Parameter erklären (94). Eine erst kürzlich veröffentlichte Studie zeigt auch den Einfluss von Software-Settings auf die Ergebnisse des MBW Test auf (95). Dort zeigte sich ein signifikanter Einfluss von einem unkorrekten Software Aufbau, z.B. ein verspätetes  $O_2$ -Signal, auf die LCI Werte. Umwelteinflüsse, wie Temperaturschwankungen zeigten hingegen nur einen sehr geringen Effekt. In unserer Studie zeigte sich eine gute Intra- und Inter-Visit Reproduzierbarkeit für alle DTG-SBW-Parameter in beiden Probandengruppen. Die bessere Reproduzierbarkeit von  $S_{\text{III DTG}}$  im Vergleich zu  $S_{\text{cond}}$  und  $S_{\text{acin}}$  scheint zunächst der Intuition zu widersprechen, da die Ergebnisse von  $S_{\text{cond}}$  und  $S_{\text{acin}}$  direkt über die Steilheitswerte über einen mehrfachen Gasauswaschtest ermittelt werden, wohingegen die DTG-SBW-Parameter über einen durchschnittlichen

---

Wert von drei einfachen Atemzügen ermittelt werden. Die methodischen Gründe für dieses Resultat sind noch nicht geklärt und erfordern neue Studien.

In der COPD Gruppe zeigten sich geringere Unterschiede in der Variabilität zwischen den Parameter des N<sub>2</sub>-MBW und des DTG-SBW. Dieses geht wahrscheinlich auf den Einfluss der Absolut-Werte des SIII-Slope zurück. Die technischen Unterschiede zwischen den beiden Testabläufen können genauso dazu beitragen wie die Unterschiede in der SIII-Analyse (automatisierte SIII-Analyse mittels Spiroware 3.1.6 mit festgelegtem Auswertebereich zwischen 50 und 95 %) mit der Option auf manuelle Korrektur vs. automatisierter Analyse von SIII<sub>DTG</sub> (mit festgelegtem Auswertebereich zwischen 60 % und 90 %) mit individuell entwickelter Software. Die beobachtete Variabilität der DTG-SBW-Parameter kann zum Teil auf unkontrollierte Atemmanöver, z.B. Flussrate, Tidalvolumen oder individuelles Lungenvolumen, zurückgeführt werden. Entsprechend haben wir auch eine „Volumenkorrektur“ für SIII<sub>DTG</sub> ( $SIII_{DTG} \cdot V_t$ ), wie zuvor von Singer et al. (73) beschrieben, durchgeführt. Aufgrund der Tatsache, dass gesunde und COPD-Probanden vergleichbare Tidalvolumina von ca. 1 l aufweisen (durchschnittliche  $V_t$  1,05 l in beiden Gruppen) lag der Korrekturfaktor nahe bei 1 und hatte wenig Einfluss auf die SIII Berechnung. Die Variabilität von SIII<sub>DTG</sub> konnte durch die Volumenkorrektur nicht verringert werden. Dieses ist in Übereinstimmung mit der Feststellung, dass in unserer Studie durch die vorgeschlagene Volumenkorrektur (Multiplikation mit  $V_t$ ) bei allen SIII-Parametern die Reproduzierbarkeit nicht verbessert werden konnte. Daher kann die Variabilität der  $V_t$  nicht alleine die Variabilität der SIII-Parameter erklären. Die Berechnung von CR hilft bei der Interpretation von veränderten Messwerten der VI im Zeitverlauf. Bei den gesunden Probanden lag dieser CR für den LCI zwischen 0,83 - 0,96. Übertragen auf klinische Bedingungen kann so die Übereinstimmungsgrenze innerhalb +/- 1 Einheit gesetzt werden und ein Unterschied > 1 zwischen zwei LCI Messungen (entsprechend einer Änderung von > 12 - 14 % des durchschnittlichen LCI) lassen eine signifikante Änderung dieser Parameter vermuten. Ähnliche Daten über die LCI Reproduzierbarkeit wurden mit demselben Gerät bei Kindern mit CF und gesunden Kontrollen erreicht (82). Bei den COPD Probanden lag der CR der VI Messzahlen generell

---

höher, wahrscheinlich zurückgehend auf die größere Variation der Lungenfunktion bei obstruktiven Lungenerkrankungen. Bei klinisch stabilen COPD Patienten kann der LCI innerhalb von 6 Monaten zwischen 2 - 3 Einheiten (18 - 28 %) schwanken.

Die Reproduzierbarkeit der Gasauswaschtestparameter bei COPD ist demnach gut, insbesondere für die DTG-SBW-Parameter.

#### **5.4 Limitationen**

In dieser Studie wurde nur eine kleine Gruppe von COPD Patienten mit nicht nach Alter und Geschlecht gematchten Kontrollpersonen verglichen. Diese genannten Faktoren können die Vergleichbarkeit der VI zwischen den beiden Gruppen beeinflussen. Weitere longitudinale Verlaufsdaten mit größeren Kohorten sind notwendig um weitere altersbedingte Einflussfaktoren zu erkennen und die Variabilität bei chronischen Lungenerkrankungen besser charakterisieren zu können. Größer angelegte Studien sind erforderlich, um mögliche Fehlerquellen, wie verschieden durchgeführte Atemmanöver, verschieden große Lungenvolumina für den DTG-SBW herauszufinden.

Aufgrund des klinischen und empirischen Ansatzes von unserer Studie, war es nicht möglich, eine exakte Lokalisierung von regionalen VI, welche zu veränderten DTG-SBW-Parametern führen, vorzunehmen. Die definitive physiologische Erklärung des DTG-SBW-Signals erfordert weitere Studien. Demnach muss der Vorhersagewert für das Vorliegen von strukturellen Atemwegsveränderungen, welche mittels DTG-Parameter ermittelt werden kann, noch bestimmt werden. Ein weiterer limitierender Faktor unserer Studie ist die Notwendigkeit zur Nutzung des Treibhausgases SF<sub>6</sub>. Aufgrund der kürzeren Untersuchungszeit und das Fehlen eines Vitalkapazitätsmanövers ist der SF<sub>6</sub>-Verbrauch aber sehr gering, insbesondere im Vergleich zu den konventionellen N<sub>2</sub>-SBW- und MBW-Test. Schwefelhexafluorid stellt ein potentes Treibhausgas dar, die gesamte SF<sub>6</sub>-Produktion ist für ca. 0,01 % der globalen Erderwärmung verantwortlich, dafür entfällt aber nur ein Bruchteil auf den medizinisch

---

genutzten Bereich (114). Zusätzlich ist SF<sub>6</sub> nicht überall beziehbar und daher im klinischen Alltag schwierig einzusetzen.

## **5.5 Schlussfolgerungen**

Die Entwicklung von Gasauswaschtest vor über 60 Jahren ermöglichte eine Methode zur Messung von Ventilationsinhomogenitäten in den kleinen Atemwegen (40). SIII<sub>DTG</sub> gemessen mit dem DTG-SBW scheint als potentieller Marker von azinären Ventilationsinhomogenitäten bei Erwachsenen mit und ohne COPD attraktiv zu sein, gerade auch, weil seine natürliche Variabilität deutlich geringer ist, als zum Beispiel die von Sacin und Scnd.

DTG-SBW ist ein einfacher und reproduzierbarer Test bei Gesunden, als auch bei Patienten mit COPD und kann mit kommerziell verfügbarer Hardware durchgeführt werden. Weitere Vorteile sind die kurze Testdauer und das Fehlen von kontrollierten Atemmanövern. Es ist jedoch eine individuelle Software zur Auswertung notwendig. Der DTG-SBW kann in der Zukunft eine Rolle in der Detektion von frühen und spezifischen Erkrankungen spielen (z. B. Bronchiolitis obliterans, Phänotypisierung der frühen COPD). Zudem kann er in der Verlaufsbeurteilung von Erkrankungen der kleinen Atemwege (z.B. Asthma bronchiale) oder als Zielparameter in Medikamenten-Studien zur Verbesserung der Therapierbarkeit bei Erkrankungen der kleinen Atemwege von Bedeutung sein.

---

## 6. Zusammenfassung

In den vergangenen Jahren wurden viele Studien über die kleinen Atemwege durchgeführt. Trotzdem bleibt der Nachweis von pathologischen Vorgängen in den kleinen Atemwegen eine Herausforderung. Selbst hochauflösende Computertomographie erlaubt nur die direkte Begutachtung der mittelgroßen Atemwege mit einem Durchmesser von 2 bis 2,5 mm (12). Bereits mehrfach zuvor wurden neue Tests gefordert um pathologische Prozesse in den kleinen Atemwegen besser aufdecken zu können. Gasauswaschtestverfahren messen die Verteilung der Ventilation und sind ein potentiell praxistauglicher nichtinvasiver Test zur Diagnostik von Erkrankungen der kleinen Atemwege. Bereits im kürzlich erschienenen Konsensus Statement für inerte Gasauswaschtests wurden vom Editorial „die Tests an der Schwelle zum klinischen Gebrauch“ bezeichnet (46). Zusätzlich beabsichtigen wir mit dem neuen Doppeltracer-Gasauswaschtest weitere Erkenntnisse über die Beteiligung der kleinen Atemwege und die klinische Einsatzfähigkeit bei der leicht- bis mittelgradigen COPD zu erbringen.

Dieses ist nun die erste Studie, die sich mit der Analyse der Variabilität und Langzeitreproduzierbarkeit von einfach zu erhebenden Messgrößen der Ventilationsinhomogenität bei Erwachsenen beschäftigt. Wir untersuchten in unserer Studie die Praktikabilität verschiedener Gasauswaschtest bei COPD und untersuchten dafür 20 Patienten mit stabiler leicht- bis mittelgradiger COPD (GOLD I - III). Zusätzlich erfolgten der Vergleich mit 40 gesunden Probanden und die Durchführung der Lungenfunktion mittels Spirometrie, Bodyplethysmographie und bei den COPD Probanden zusätzlich der Vergleich mit der  $DL_{CO}$ . Im Rahmen der Studie wurde der 2011 von Singer et al. (73) neu beschriebene DTG-SBW durchgeführt, dabei erfolgt ein Ruheatemzug mit zwei inerten Gasen. Die Messung des DTG-SBW erfolgte mit einem kommerziell erhältlichen Gerät, die Auswertung mit einer individuellen Software.

Wir konnten bei den gesunden Probanden LCI-Werte von 6,94 (Mittelwert) messen und damit vergleichbare Werte zu den zuvor veröffentlichten Referenzwerten (53) feststellen. Als erste Studie beschäftigten wir uns mit der

---

Ermittlung des LCI bei den COPD Probanden, dieser lag mit 12,23 (Mittelwert) signifikant höher als bei den gesunden Probanden.

Unsere Testergebnisse zeigen, dass der DTG-SBW einen leicht durchführbaren und reproduzierbaren Test, auch für Probanden mit COPD, darstellt. Der Test ist einfach und mit einer Erfolgsrate von über 95 % durchführbar. Die Reproduzierbarkeit des DTG-SBW ist gut bei gesunden und bei COPD Probanden (Intra- und Inter-Visit ICC > 0,8). Auch die Testdauer war mit ca. fünf Minuten für drei DTG-SBW-Tests, inklusive der notwendigen Wartezeiten zwischen den Tests, signifikant kürzer als bei den anderen Gasauswaschtests. Die Analyse des DTG-SBW erfolgt offline mit einer Individualsoftware. Der Hauptparameter  $S_{III_{DTG}}$  konnte als möglicher Marker für azinäre Ventilationsinhomogenitäten identifiziert werden. Es zeigte sich dabei eine Assoziation zur  $DL_{CO}$ , wahrscheinlich beruhend auf den azinären Defekt beim fortschreitenden Emphysem. Der DTG-SBW ist ein sensitiver und patientenfreundlicher Test und kann in der Zukunft vielleicht als alternativer Test zur Früherkennung des Lungenemphysems genutzt werden.

---

## 7. Veröffentlichungen

Teile der vorliegenden Dissertationsschrift wurden bereits in der folgenden Publikationen veröffentlicht: Husemann, K., Berg, N., Engel, J., Port, J., Joppek, C., Tao, Z., Singer F., Schulz H., Kohlhäufl, M. (2014). Double tracer gas single-breath washout: reproducibility in healthy subjects and COPD. *European Respiratory Journal* 44.5 (2014): 1210-1222.

## 8. Danksagung

Herrn Prof. Dr. Martin Kohlhäufl möchte ich für die freundliche Überlassung des hochinteressanten Themas und die Bereitstellung des Arbeitsplatzes herzlich danken. Mein besonderer Dank gilt auch Frau Dr. Kim Husemann. Jederzeit gewährte sie mir bei der Planung, Durchführung und Auswertung der vorliegenden Arbeit wertvolle Unterstützung. Dankbar anerkennen will ich auch ihre immer freundliche, uneingeschränkte und geduldige Bereitschaft mir ihr großes Wissen über die kleinen Atemwege weiterzugeben.

Ein ganz besonderer Dank geht an meine Mitdotorandin Frau Nina Berg sowie an alle Mitarbeiter und Mitarbeiterinnen der Lungenfunktion der Klinik Schillerhöhe für die außerordentlich gute Zusammenarbeit und Unterstützung.

Ich möchte mich weiterhin bei allen bedanken, die mir diese Arbeit ermöglicht haben: Ein ganz besonderer Dank geht an meine Eltern, die mir das Studium der Humanmedizin ermöglichten und mir auch während der Anfertigung der Doktorarbeit immerzu unterstützend und liebevoll zur Seite standen. Ganz besonderen Dank dafür, dass sie immer das Beste für meine Geschwister und mich tun und alles Erdenkliche bereit sind, dafür zu geben.

Zuletzt danke ich noch meinem Partner, Marcel Wassermann, für die ständige Motivation diese Arbeit fertig zu stellen, sowie für die Hilfeleistung bei jeglichen Computerproblemen.

---

## **9. Erklärung zum Eigenanteil der Dissertationsschrift**

Die Arbeit wurde in der Klinik Schillerhöhe unter Betreuung von Herrn Prof. Dr. M. Kohlhäufel durchgeführt.

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

Die Versuche wurden von mir (mit Unterstützung durch Nina Berg, Kim Husemann und dem Lungenfunktionsteam der Klinik Schillerhöhe) durchgeführt.

Alle mit dem Exhalyzer D durchgeführten COPD-Patientenmessungen wurden von mir durchgeführt und selbst ausgewertet. Der Algorithmus für die DTG-Auswertung wurde entwickelt von Dr. Port und Dr. Joppek (Institut für biomedizinische Technik, Universität Stuttgart).

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

Leonberg, den 13.6.2016

Jennifer Engel

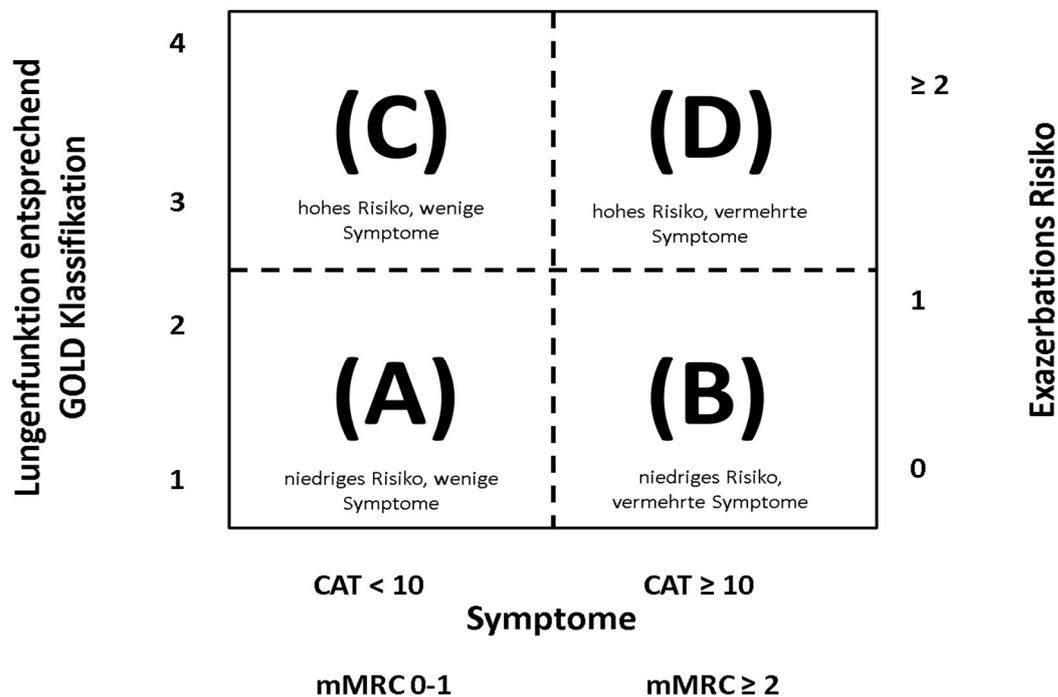
---

## Anhang

**Tabelle 1a: Einteilung der COPD-Patienten anhand der GOLD-Klassifikation (3).**

<b>Schweregradeinteilung der COPD anhand der post-bronchodilatorisch ermittelten FEV<sub>1</sub></b>	
<b>Stadium I: leichtgradig</b>	$FEV_1/FVC < 0.7$ $FEV_1 \geq 80\%$ predicted
<b>Stadium II: mittelgradig</b>	$FEV_1/FVC < 0.7$ $50\% \leq FEV_1 < 80\%$ predicted
<b>Stadium III: schwergradig</b>	$FEV_1/FVC < 0.7$ $30\% \leq FEV_1 < 50\%$ predicted
<b>Stadium IV: hochgradig</b>	$FEV_1/FVC < 0.7$ $FEV_1 < 30\%$ predicted oder $FEV_1 < 50\%$ predicted plus chronisch respiratorische Insuffizienz

**Tabelle 1b: Neue Klassifikation der COPD Patienten (3).**



CAT: COPD Assessment Test; mMRC: Modified Medical Research Council (MMRC-) Dyspnoeskala

**Tabelle 2: Ein/Ausschlusskriterien für die gesunden Probanden.**

<b><u>Gesunde Erwachsene (HA)</u></b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Gesunde nichtrauchende Erwachsene ≤ 40 Jahre</li> <li>• Gesunde nichtrauchende Erwachsene &gt; 40 Jahre</li> </ul>	<p><b>HA1</b></p> <p><b>HA2</b></p>
<b>Ein-/Ausschlusskriterien:</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Gesunde Erwachsene ohne respiratorische Erkrankung im Alter von 18 - 70 Jahre</li> <li>• Nieraucher oder ex-Raucher &lt; 5 PY mit Nikotinkarenz seit &gt; 1 Jahr</li> <li>• Keine Atemwegsinfektion in dem letzten Monat</li> </ul>	

**Tabelle 3: Ein/Ausschlusskriterien für COPD Patienten.**

<u>Patienten mit stabiler COPD (CO)</u>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Patienten mit COPD GOLD I</li> </ul>	<b>CO1</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Patienten mit GOLD II-III</li> </ul>	<b>CO2</b>
<p><b>Ein/Ausschlusskriterien:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Klinische Diagnose der COPD gemäß der internationalen Leitlinien (3)</li> <li>• Schweregradeinteilung anhand der post-bronchodilatorisch ermittelten FEV<sub>1</sub> (3)</li> <li>• Raucheranamnese von mindestens 10 PY</li> <li>• Keine Atemwegsinfektion oder Exazerbation innerhalb des letzten Monats</li> <li>• Keine Veränderungen der Behandlung/Therapie in den letzten drei Monaten</li> </ul>	

**Tabelle 4: Ablaufplan für die gesunden Probanden.**

Ablauf	Visit 1	Visit 2	Visit 3	Visit 4
	Tag 0	1 Woche	1 Monat	6 Monate
<b>Unterschriebene Einwilligung</b>	X			
<b>Ein-/Ausschlusskriterien</b>	X			
<b>Anamnese</b>		X	X	X
<b>Spirometrie</b>	X	X	X	X
<b>Bodyplethysmographie</b>	X	X	X	X
<b>N<sub>2</sub>-SBW</b>	X	X	X	X
<b>N<sub>2</sub>-MBW</b>	X	X	X	X
<b>DTG-SBW</b>	X	X	X	X

---

**Tabelle 5: Ablaufplan für die COPD-Probanden.**

Ablauf	Visit 1	Visit 2	Visit 3	Visit 4
	Tag 0	1 Woche	1 Monat	6 Monate
Unterschiedene Einwilligung	X			
Ein-/Ausschlusskriterien	X			
Anamnese		X	X	X
Spirometrie	X	X	X	X
Bodyplethysmographie	X	X	X	X
DL <sub>co</sub>	X			
N <sub>2</sub> -SBW	X	X	X	X
N <sub>2</sub> -MBW	X	X	X	X
DTG-SBW	X	X	X	X

---

## **Literaturverzeichnis**

1. Filley GF, Dart GA, Mitchell RS. Emphysema and chronic bronchitis: clinical manifestations and their physiological significance. In: Aspen Emphysema Conference. 1967. p. 339–49.
2. Mitchell R, Ryan S, Petty T, Filley G. The significance of morphologic chronic hyperplastic bronchitis. *Am Rev Respir Dis.* 1966;93(5):720–9.
3. Global strategy for the Diagnosis, Management and prevention of COPD, Global initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD) 2014. Verfügbar über <http://www.goldcopd.org/>.
4. Lopez AD, Murray C. The global burden of disease. *Nat Med.* 1998;4(11):1241–3.
5. Hurd S. The impact of COPD on lung health worldwide epidemiology and incidence. *Chest J.* 2000;117(2\_suppl):1S – 4S.
6. Mathers C, Fat DM, Boerma J. The global burden of disease: 2004 update. World Health Organization; 2008.
7. Geldmacher H, Biller H, Herbst A, Urbanski K, Allison M, Buist A, et al. Die Prävalenz der chronisch obstruktiven Lungenerkrankung (COPD) in Deutschland. *DMW-Dtsch Med Wochenschr.* 2008;133(50):2609–14.
8. Gershon AS, Warner L, Cascagnette P, Victor JC, To T. Lifetime risk of developing chronic obstructive pulmonary disease: a longitudinal population study. *The Lancet.* 2011;378(9795):991–6.
9. Barnes P. Small airways in COPD. *N Engl J Med.* 2004;350(26):2635.
10. Choudhury G, Rabinovich R, MacNee W. Comorbidities and Systemic Effects of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Clin Chest Med.* 2014;35(1):101–30.
11. Hogg JC, Chu F, Utokaparch S, Woods R, Elliott WM, Buzatu L, et al. The nature of small-airway obstruction in chronic obstructive pulmonary disease. *N Engl J Med.* 2004;350(26):2645–53.
12. Martin C, Frija J, Burgel P-R. Dysfunctional lung anatomy and small airways degeneration in COPD. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis.* 2013;8:7.
13. Vogelmeier C, Buhl R, Criege C, Gillissen A, Kardos P, Köhler D, et al. Leitlinie der Deutschen Atemwegsliga und der Deutschen Gesellschaft für Pneumologie und Beatmungsmedizin zur Diagnostik und Therapie von Patienten mit chronisch obstruktiver Bronchitis und Lungenemphysem (COPD). *Pneumologie.* 2007;61(5):e1–40.
14. Vogelmeier C, Worth H. COPD–Historischer Überblick, aktuelles Management, Forschungsperspektiven. *Pneumologie.* 2010;64(09):550–4.

- 
15. Piqueras MC, Cosio M. Disease of the airways in chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J*. 2001;18(34 suppl):41s – 49s.
  16. Szilasi M, Dolinay T, Nemes Z, Strausz J. Pathology of chronic obstructive pulmonary disease. *Pathol Oncol Res*. 2006;12(1):52–60.
  17. Bozinovski S, Vlahos R, Hansen M, Liu K, Anderson GP. Akt in the pathogenesis of COPD. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*. 2006;1(1):31.
  18. Niewoehner DE, Knoke JD, Kleinerman J. Peripheral airways as a determinant of ventilatory function in the human lung. *J Clin Invest*. 1977;60(1):139.
  19. Snider G. The definition of emphysema: report of a National Heart, Lung and Blood Institute. Division of Lung Diseases. Workshop. *Am Rev Respir Dis*. 1985;132:182–5.
  20. Thurlbeck WM. Pathology of chronic airflow obstruction. *Chest*. 1990;97(2\_Supplement):6S – 10S.
  21. Tudor RM, Petrache I. Pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease. *J Clin Invest*. 2012;122(8):2749.
  22. McDonough JE, Yuan R, Suzuki M, Seyednejad N, Elliott WM, Sanchez PG, et al. Small-airway obstruction and emphysema in chronic obstructive pulmonary disease. *N Engl J Med*. 2011;365(17):1567–75.
  23. Hochegger B, Dixon S, Screatton N, Da Silva VC, Marchiori E, Binukrishnan S, et al. Emphysema and smoking-related lung diseases. 2014; 20(4):219-235
  24. Grosse C, Bankier A. Bildgebung des Lungenemphysems. *Radiol*. 2007;47(5):401–6.
  25. Woolcock AJ, Vincent N, Macklem PT. Frequency dependence of compliance as a test for obstruction in the small airways. *J Clin Invest*. 1969;48(6):1097.
  26. Macklem PT, Mead J. Resistance of central and peripheral airways measured by a retrograde catheter. *J Appl Physiol*. 1967;22(3):395–401.
  27. Robinson PD, Goldman MD, Gustafsson PM. Inert gas washout: theoretical background and clinical utility in respiratory disease. *Respiration*. 2009;78(3):339–55.
  28. Lorenz R. Weibel, ER: Morphometry of the Human Lung. Springer Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1963; 151 S., 109 Abb., DM 36,-. *Biom Z*. 1966;8(1-2):143–4.
  29. Macklem PT. The physiology of small airways. *Am J Respir Crit Care Med*. 1998;157(5):S181–3.
  30. Kraft M. The distal airways: are they important in asthma? *Eur Respir J*. 1999;14(6):1403–17.
  31. Niewoehner D, Cosio M. Chronic obstructive lung disease: the role of airway disease, with special emphasis on the pathology of small airways. *Monogr Pathol*. 1978;19:160.



- 
48. Verbanck S, Thompson BR, Schuermans D, Kalsi H, Biddiscombe M, Stuart-Andrews C, et al. Ventilation heterogeneity in the acinar and conductive zones of the normal ageing lung. *Thorax*. 2012;67(9):789–95.
  49. Gustafsson PM. Peripheral airway involvement in CF and asthma compared by inert gas washout. *Pediatr Pulmonol*. 2007;42(2):168–76.
  50. Gustafsson PM, Johansson HJ, Dahlbäck GO. Pneumotachographic nitrogen washout method for measurement of the volume of trapped gas in the lungs. *Pediatr Pulmonol*. 1994;17(4):258–68.
  51. Paiva M. Theoretical studies of gas mixing in the lung. *Lung Biol Health Dis*. 1985;25:221–85.
  52. Robinson P, Latzin P, Gustafsson P. Multiple-breath washout. *Eur Respir Mon*. 2010;47:87–104.
  53. Houltz B, Green K, Lindblad A, Singer F, Robinson P, Nielsen K, et al. Tidal N<sub>2</sub> washout ventilation inhomogeneity indices in a reference population aged 7–70 years. *Eur Respir J*. 2012;40 (Suppl 56), P3797
  54. Horsley A, others. Lung clearance index in the assessment of airways disease. *Respir Med*. 2009;103(6):793.
  55. Gustafsson PM, De Jong PA, Tiddens HA, Lindblad A. Multiple-breath inert gas washout and spirometry versus structural lung disease in cystic fibrosis. *Thorax*. 2008;63(2):129–34.
  56. Horsley AR, Gustafsson PM, Macleod K, Saunders C, Greening AP, Porteous D, et al. Lung clearance index is a sensitive, repeatable and practical measure of airways disease in adults with cystic fibrosis. *Thorax*. 2008;63(2):135–40.
  57. Kieninger E, Singer F, Fuchs O, Abbas C, Frey U, Regamey N, et al. Long-term course of lung clearance index between infancy and school-age in cystic fibrosis subjects. *J Cyst Fibros*. 2011;10(6):487–90.
  58. De Vries W, Luijendijk S, Zwart A. Helium and sulfur hexafluoride washout in asymmetric lung models. *J Appl Physiol*. 1981;51(5):1122–30.
  59. Von Nieding G, Löllgen H, Smidt U, Linde H. Simultaneous washout of helium and sulfur hexafluoride in healthy subjects and patients with chronic bronchitis, bronchial asthma, and emphysema. *Am Rev Respir Dis*. 1977;116(4):649.
  60. Paiva M, Van Muylem A, Ravez P, Yernault JC. Inspired volume dependence of the slope of the alveolar plateau. *Respir Physiol*. 1984;56(3):309–25.
  61. Paiva M, Engel L. Model analysis of gas distribution within human lung acinus. *J Appl Physiol*. 1984;56(2):418–25.

- 
62. Estenne M, Van Muylem A, Knoop C, Antoine M. Detection of obliterative bronchiolitis after lung transplantation by indexes of ventilation distribution. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000;162(3):1047–51.
  63. Van Muylem A, De Vuyst P, Yernault J-C, Paiva M. Inert gas single-breath washout and structural alteration of respiratory bronchioles. *Am J Respir Crit Care Med.* 1992;146(5 Pt 1):1167–72.
  64. Van Muylem A, Paiva M, Estenne M. Involvement of peripheral airways during methacholine-induced bronchoconstriction after lung transplantation. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001;164(7):1200–3.
  65. Van Muylem A, Baran D. Overall and peripheral inhomogeneity of ventilation in patients with stable cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol.* 2000;30(1):3–9.
  66. Singer F, Stern G, Thamrin C, Fuchs O, Riedel T, Gustafsson P, et al. Tidal volume single breath washout of two tracer gases-a practical and promising lung function test. *PLoS One.* 2011;6(3):e17588.
  67. King GG. Cutting edge technologies in respiratory research: lung function testing. *Respirology.* 2011;16(6):883–90.
  68. Cosio M, Ghezzi H, Hogg J, Corbin R, Loveland M, Dosman J, et al. The relations between structural changes in small airways and pulmonary-function tests. *N Engl J Med.* 1978;298(23):1277–81.
  69. Verbanck S, Schuermans D, Meysman M, Paiva M, Vincken W. Noninvasive Assessment of Airway Alterations in Smokers The Small Airways Revisited. *Am J Respir Crit Care Med.* 2004;170(4):414–9.
  70. Jensen R, Stanojevic S, Gibney K, Salazar JG, Gustafsson P, Subbarao P, et al. Multiple Breath Nitrogen Washout: A Feasible Alternative to Mass Spectrometry. *PLoS One.* 2013;8(2):e56868.
  71. Aurora P, Kozłowska W, Stocks J, others. Gas mixing efficiency from birth to adulthood measured by multiple-breath washout. *Respir Physiol Neurobiol.* 2005;148(1-2):125.
  72. Horsley AR, Macleod KA, Robson AG, Lenney J, Bell NJ, Cunningham S, et al. Effects of cystic fibrosis lung disease on gas mixing indices derived from alveolar slope analysis. *Respir Physiol Neurobiol.* 2008;162(3):197–203.
  73. Singer F, Stern G, Thamrin C, Abbas C, Casaulta C, Frey U, et al. A new double-tracer gas single-breath washout to assess early cystic fibrosis lung disease. *Eur Respir J.* 2013;41(2):339–45.
  74. Husemann K, Berg N, Engel J, Port J, Joppek C, Tao Z, et al. Double tracer gas single-breath washout: reproducibility in healthy subjects and COPD. *Eur Respir J.* 2014;44(5):1210–22.
  75. Criée C, Berdel D, Heise D, Jörres R, Kardos P, Köhler D, et al. Empfehlungen zur Ganzkörperplethysmographie. Münch Orlando Dustrri-Verl Dr Karl Feistle. 2009;

- 
76. Miller MR, Hankinson J, Brusasco V, Burgos F, Casaburi R, Coates A, et al. Standardisation of spirometry. *Eur Respir J*. 2005;26(2):319–38.
  77. Miller MR, Crapo R, Hankinson J, Brusasco V, Burgos F, Casaburi R, et al. General considerations for lung function testing. *Eur Respir J*. 2005;26(1):153–61.
  78. Macintyre N, Crapo R, Viegi G, Johnson D, Van der Grinten C, Brusasco V, et al. Standardisation of the single-breath determination of carbon monoxide uptake in the lung. *Eur Respir J*. 2005;26(4):720–35.
  79. Quanjer PH, Stanojevic S, Cole TJ, Baur X, Hall GL, Culver BH, et al. Multi-ethnic reference values for spirometry for the 3–95-yr age range: the global lung function 2012 equations. *Eur Respir J*. 2012;40(6):1324–43.
  80. Cotes J, Chinn D, Quanjer PH, Roca J, Yernault J-C. Standardization of the measurement of transfer factor (diffusing capacity). *Eur Respir J*. 1993;6(Suppl 16):41–52.
  81. Martin Bland J, Altman D. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *The lancet*. 1986;327(8476):307–10.
  82. Singer F, Kieninger E, Abbas C, Yammine S, Fuchs O, Proietti E, et al. Practicability of nitrogen multiple-breath washout measurements in a pediatric cystic fibrosis outpatient setting. *Pediatr Pulmonol*. 2013; 48(8):739-746
  83. Robinson PD, Stocks J, Aurora P, Lum S. Abbreviated multi-breath washout for calculation of lung clearance index. *Pediatr Pulmonol*. 2013; 48(8):336-343
  84. Yammine S, Singer F, Abbas C, Roos M, Latzin P. Multiple-breath washout measurements can be significantly shortened in children. *Thorax*. 2013; 68(6):586-587
  85. Cutillo A, Bigler A, Perondi R, Turiel M, Watanabe S, Renzetti Jr A. Exercise and distribution of inspired gas in patients with obstructive pulmonary disease. *Bull Eur Physiopathol Respir*. 1980;17(6):891–901.
  86. Verbanck S, Schuermans D, Van Muylem A, Melot C, Noppen M, Vincken W, et al. Conductive and acinar lung-zone contributions to ventilation inhomogeneity in COPD. *Am J Respir Crit Care Med*. 1998;157(5):1573–7.
  87. Verbanck S, Schuermans D, Vincken W. Small airways ventilation heterogeneity and hyperinflation in COPD: response to tiotropium bromide. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*. 2007;2(4):625.
  88. Stuart-Andrews CR, Kelly VJ, Sands SA, Lewis AJ, Ellis MJ, Thompson BR. Automated detection of the phase III slope during inert gas washout testing. *J Appl Physiol*. 2012;112(6):1073–81.
  89. Verbanck S, Schuermans D, Paiva M, Meysman M, Vincken W. Small airway function improvement after smoking cessation in smokers without airway obstruction. *Am J Respir Crit Care Med*. 2006;174(8):853–7.

- 
90. Van den Berge M, ten Hacken NH, Cohen J, Douma WR, Postma DS. Small airway disease in asthma and COPD: clinical implications. *CHEST J.* 2011;139(2):412–23.
  91. John M, Bosse S, Oltmanns U, Schumacher A, Witt C. Effects of inhaled HFA beclomethasone on pulmonary function and symptoms in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Respir Med.* 2005;99(11):1418–24.
  92. Tatsis G, Kotsifas K, Filaditaki V, Makrantonis G, Bouliou S. Efficacy of beclomethasone dipropionate HFA 200 µg once daily in chronic obstructive pulmonary disease and bronchial asthma. *J Int Med Res.* 2007;35(3):361–73.
  93. Fuchs SI, Eder J, Ellemunter H, Gappa M. Lung clearance index: normal values, repeatability, and reproducibility in healthy children and adolescents. *Pediatr Pulmonol.* 2009;44(12):1180–5.
  94. Downie SR, Salome CM, Verbanck S, Thompson B, Berend N, King GG. Ventilation heterogeneity is a major determinant of airway hyperresponsiveness in asthma, independent of airway inflammation. *Thorax.* 2007;62(8):684–9.
  95. Summermatter S, Singer F, Latzin P, Yammine S. Impact of Software Settings on Multiple-Breath Washout Outcomes. *PloS One.* 2015;10(7):e0132250.

---

## **Abbildungsverzeichnis**

Abbildung 1: Schematische Aufteilung der Atemwege nach Robinson et al. (27).....	14
Abbildung 2: Typisches Expirogramm eines einfachen Stickstoffauswaschtest nach Robinson et al. (27).....	20
Abbildung 3: N <sub>2</sub> -MBW bei einem gesunden Probanden. ....	21
Abbildung 4: SnIII-Kurve und Ableitung Sacin und Scond.....	23
Abbildung 5: Schematische Konvektions- und Diffusionsfront im Lungenmodel. ....	25
Abbildung 6: SF <sub>6</sub> und He- Expirogramm anhand eines schematischen Lungenmodells nach Paiva et al. (60).....	25
Abbildung 7: Aufbau des EXHALYZER®D zur Durchführung von Gasauswaschtests. 31	
Abbildung 8: Aufbau des Ultraschallflussmesser-DTG-SBW nach Singer et al. (73)....	33
Abbildung 9a: Assoziation zwischen MMss (g/mol) und CO <sub>2</sub> (%) während der Ruheatmung von Raumluft (74): Gesunde Nichtraucher. R <sup>2</sup> > 0.99. ....	34
Abbildung 9b: Assoziation zwischen MMss (g/mol) und CO <sub>2</sub> (%) während der Ruheatmung von Raumluft (74): Patient mit COPD. R <sup>2</sup> > 0.99. ....	35
Abbildung 10: Synchronisierte Rohdaten und DTG-Test-Signal.....	36
Abbildung 11: DTG-SBW Outcome Parameter (74). ....	38
Abbildung 12: N <sub>2</sub> -SBW gesunder Proband. ....	43
Abbildung 13: N <sub>2</sub> -SBW COPD Proband.....	43
Abbildung 14: N <sub>2</sub> -MBW-Kurve gesunder Proband. ....	45
Abbildung 15: N <sub>2</sub> -MBW-Kurve COPD-Patient.....	45
Abbildung 16: N <sub>2</sub> -MBW-Phase III Analyse gesunder Proband. ....	46
Abbildung 17: N <sub>2</sub> -MBW-Phase III Analyse COPD-Patient. ....	46
Abbildung 18: Typische DTG-SBW Signale bei einem Gesunden (links) und bei einem COPD Probanden (rechts), Hauptparameter SIII <sub>DTG</sub> rot markiert. ....	47
Abbildung 19: DTG-SBW Signale von 2 COPD Patienten mit unterschiedlichem Emphysem Anteil.....	48
Abbildung 20: Reproduzierbarkeit der wichtigsten Gasauswaschtest-Parameter bei den COPD Probanden (74). ....	52

---

## **Tabellenverzeichnis**

Tabelle 1a: Einteilung der COPD-Patienten anhand der GOLD-Klassifikation (3) .....	68
Tabelle 1b: Neue Klassifikation der COPD Patienten (3).....	69
Tabelle 2: Ein/Ausschlusskriterien für die gesunden Probanden.....	69
Tabelle 3: Ein/Ausschlusskriterien für COPD-Patienten .....	70
Tabelle 4: Ablaufplan für die gesunden Probanden.....	70
Tabelle 5: Ablaufplan für die COPD-Probanden.....	71
Tabelle 6: Klinische und demographische Daten der gesunden und COPD Probanden (74).....	41
Tabelle 7: Assoziation zwischen Gasauswaschparametern und DL <sub>CO</sub> (FEV <sub>1</sub> ).....	49
Tabelle 8: Assoziation zwischen DTG-SBW-Parametern und N <sub>2</sub> - Gasauswaschtest- Parametern.....	49
Tabelle 9: Ergebnisse der Gasauswaschtests und Intra-Test-Reproduzierbarkeit bei den COPD Probanden.....	50
Tabelle 10: Inter-Visit Reproduzierbarkeit der wichtigsten Gasauswaschtest-Parameter bei den COPD Probanden (74).....	53