



Aus der Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und Intensivtherapie der
Universität Rostock

Direktorin: Prof. Dr. med. Gabriele Nöldge-Schomburg

Untersuchung der Atemluft bei Patienten unter Hämodialyse



Inauguraldissertation

zur

Erlangung des akademischen Grades

Doktor der Medizin

der Medizinischen Fakultät

der Universität Rostock

vorgelegt von

Tina Görl, geb. Liebau

geboren am 14.12.1983 in Güstrow

aus Rostock

Rostock, Mai 2011

Dekan: Prof. Dr. med. Emil Christian Reisinger



Gutachter:

1. Prof. Dr. med. Dipl. chem. Jochen Schubert
Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und Intensivtherapie
Universität Rostock
2. Prof. Dr. med. Steffen R. Mitzner
Klinik für Innere Medizin/ Abteilung für Nephrologie
Universität Rostock
3. Prof. Dr. Christian Zöllner, D.E.S.A.
Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie
Universitätsklinikum Hamburg Eppendorf

Tag der Verteidigung: 4. Oktober 2011



Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen

ACE	Angiotensin converting enzyme (Angiotensin-konvertierendes Enzym)
ADMA	asymmetrisches Dimethyl-L-Arginin
ANOVA	Analysis of Variance (Varianzanalyse)
ANV	Akutes Nierenversagen
ARDS	acute respiratory distress syndrome (akutes Lungenversagen)
art. HT	arterielle Hypertonie
BMI	Body-Mass-Index
c	Konzentration
$c_{\text{insp.}}$	inspiratorische Konzentration
$c_{\text{exp.}}$	expiratorische Konzentration
DFP	Druck-Frequenz-Produkt (DFP = MAD x HF)
DMS	Dimethylsulfid
EK	Erkrankung
eV	Elektronenvolt
fHb	freies Hämoglobin
GC	Gaschromatograph
GFR	glomeruläre Filtrationsrate
GSH	Glutathion
Hb	Hämoglobin
HF	Herzfrequenz
HLP	Hyperlipoproteinämie
HMG-CoA	3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-Coenzym-A
HZV	Herzzeitvolumen
IDH	intradialytische Hypotension
IL-1	Interleukin 1
KHK	koronare Herzkrankheit
LDH	Lactatdehydrogenase
m	männlich
MAD	mittlerer arterieller Druck
MDA	Malondialdehyd
n	Anzahl
p	statistisches Signifikanzniveau
p_I	statistisches Signifikanzniveau für Isopren
p_A	statistisches Signifikanzniveau für Aceton



p _P	statistisches Signifikanzniveau für Pentan
PatID	Patientenidentifikationsnummer
pAVK	periphere arterielle Verschlusskrankheit
pCO ₂	Kohlenstoffdioxidpartialdruck
PDMS	Polydimethylsiloxan
ppbv	parts per billion by volume (Teile pro Volumenmilliarde)
PPI	Protonenpumpeninhibitor
py	pack years (Packungsjahr als inhalierte Rauch-Dosis)
r	Korrelationskoeffizient
RM ANOVA	Repeated Measures Analysis of Variance (Varianzanalyse mit Messwiederholungen)
ROS	reactive oxygen spezies (reaktive Sauerstoffspezies)
SIRS	systemic inflammatory response syndrome (systemisches inflammatorisches Response-Syndrom)
SPME	solid phase microextraction (Festphasenmikroextraktion)
TBARS	thiobarbituric acid reactive substances (Thiobarbitursäure-reaktive Substanzen)
U/l	Units (Einheiten) pro Liter
UF	Ultrafiltrationsrate
VOC	volatile organic compound (flüchtige organische Substanz)
w	weiblich



Inhalt

1. Einleitung	8
1.1. Chronische Niereninsuffizienz	8
1.2. Nierenersatztherapie	10
1.3. Der dialysepflichtige Patient in der Atemgasanalytik	11
1.4. Zielstellung	17
2. Material und Methoden	18
2.1. Patienten und Studiendesign	18
2.1.1. <i>Epidemiologische Daten</i>	18
2.1.2. <i>Ursachen der Dialysepflichtigkeit</i>	20
2.1.3. <i>Komorbiditäten der rekrutierten dialysepflichtigen Patienten</i>	21
2.1.4. <i>Physiologische Parameter</i>	21
2.2. Atemgasprobennahme	22
2.2.1. <i>Vorbereitung der Atemgasprobengewinnung</i>	22
2.2.2. <i>Durchführung der Atemgasprobengewinnung</i>	23
2.3. Blutprobennahme	26
2.4. Probenanalytik	26
2.4.1. <i>Atemgasproben</i>	26
2.4.2. <i>Blutproben</i>	27
2.5. Statistik	28
3. Ergebnisse	30



3.1.	Konzentrationsänderungen der VOCs im zeitlichen Verlauf einer Dialysebehandlung	30
3.2.	Konzentrationsänderungen von VOCs und Änderungen des Druck-Frequenz-Produktes im Verlauf einer Dialysebehandlung	34
3.3.	Vergleich von VOC-Atemgaskonzentrationen zwischen Patienten mit und ohne Diabetes mellitus	35
3.4.	Vergleich von VOC-Atemgaskonzentrationen zwischen weiblichen und männlichen Patienten.....	38
3.5.	Altersabhängigkeit der VOC-Atemgaskonzentrationen	39
3.6.	Vergleich von VOC-Atemgaskonzentrationen zwischen Patienten mit einem BMI $\leq 25 \text{ kg/m}^2$ und Patienten mit einem BMI $> 25 \text{ kg/m}^2$	39
3.7.	Medikamenteneinnahme und VOC-Konzentrationen im Atemgas	40
3.7.1.	<i>Vergleich von VOC-Atemgaskonzentrationen zwischen Patienten mit und Patienten ohne medikamentöse Statin-Therapie</i>	<i>40</i>
3.7.2.	<i>Vergleich von VOC-Atemgaskonzentrationen zwischen Patienten mit und ohne medikamentöse ACE-Hemmer-Therapie</i>	<i>40</i>
3.8.	Hämolyseparameter und VOCs im zeitlichen Verlauf einer Dialysebehandlung	41
3.8.1.	<i>Konzentrationsänderungen von freiem Hämoglobin im Serum</i>	<i>41</i>
3.8.2.	<i>Konzentrationsänderungen von VOCs und LDH-Aktivität</i>	<i>42</i>
3.9.	Retentionsparameter und VOCs im Atemgas im zeitlichen Verlauf einer Dialysebehandlung.....	43
3.10.	VOC-Konzentrationen in der Umgebungsluft	45
4.	Diskussion	46



5. Zusammenfassung.....	60
6. Literaturverzeichnis	62
7. Thesen.....	69



1 Einleitung

1.1 Chronische Niereninsuffizienz

Die chronische Niereninsuffizienz bezeichnet einen über Monate oder Jahre voranschreitenden irreversiblen Verlust der glomerulären, tubulären und endokrinen Nierenfunktion und tritt mit einer jährlichen Inzidenz von 203/1.000.000 Bundesbürger in Deutschland auf (ERA-EDTA Registry 2005, Annual Report).

Laut aktuellen Angaben des „Verband Deutsche Nierenzentren e.V.“ leiden deutschlandweit rund 90.000 Menschen an einer chronischen Nierenerkrankung oder terminalen Niereninsuffizienz. Etwa 75% dieser Patienten sind auf eine regelmäßige Dialysebehandlung angewiesen.

Definitionsgemäß unterscheidet man vier Stadien im Verlauf der chronischen Niereninsuffizienz, die sich nach der klinischen Symptomatik des Patienten, der glomerulären Filtrationsrate (GFR) und den Retentionsparametern Kreatinin und Harnstoff im Serum richten.

Eine zunehmende Einschränkung der exkretorischen sowie inkretorischen Nierenfunktion zieht multiple metabolische Veränderungen nach sich, die jede für sich, aber insbesondere in Kombination, schwerwiegende Komplikationen im menschlichen Organismus induzieren können. Komplexe Störungen im Wasser-, Elektrolyt- und Säure-Basen-Haushalt treten auf. Verursacht durch die unzureichende renale Reabsorption und Sekretion von harnpflichtigen Substanzen sowie die zunehmende Unfähigkeit der Nieren zur Harnkonzentrierung sind Hyperhydratationserscheinungen wie periphere Ödeme, Anasarka oder das Auftreten eines Lungenödems die Folgen. Außerdem können Dyselektrolytämien, eine metabolische Azidose und urämische Komplikationen resultieren. Zu letzteren zählen urämiebedingte Veränderungen am Herzkreislaufsystem, wie beispielsweise die urämische Kardiomyopathie und Perikarditis, die urämische Enzephalopathie bis hin zum Koma sowie eine Urämie induzierte erhöhte Blutungsneigung.



Ein entscheidender pathogenetischer Faktor in der Entstehung der Urämie könnte, den Arbeiten von Kielstein et al. zufolge, das asymmetrische Dimethyl-L-Arginin (ADMA) sein [1]. Relativ frühzeitig im Verlauf der Niereninsuffizienz scheint das ADMA zu akkumulieren und inhibierend auf die antioxidative und antiatherosklerotische Funktion des Stickstoffmonoxids im Organismus zu wirken [1-5].

In der Zusammenschau experimenteller und klinischer Untersuchungen kann postuliert werden, dass die ADMA-Akkumulation durch Inhibition von Stickstoffmonoxid (NO) zum einen in eine verminderte antioxidative Kapazität des Organismus und zum anderen in eine endotheliale Dysfunktion sowie einer beschleunigten Bildung atherosklerotischer Plaques mündet [6].

Auch Harnstoff, welcher bei terminaler Niereninsuffizienz retiniert wird, inhibiert wie ADMA die NO-Synthese [7].

Sowohl Harnstoff in urämietyptischen Konzentrationen als auch das vermehrt anfallende ADMA begünstigen demzufolge das kardiovaskuläre Risiko von Dialysepatienten durch beschleunigte und vermehrte Bildung atherosklerotischer Plaques.

In prospektiven Analysen konnten Levin und Chauhan aufzeigen, dass Nierenkranke mit einer über 20%igen Wahrscheinlichkeit in den nächsten zehn Jahren ein potentiell zum Tode führendes kardiovaskuläres Ereignis erleiden [8, 9]. Nach Collins und Voroneanu et al. beruhen mehr als die Hälfte aller Todesfälle von Dialysepatienten auf Myokardinfarkten, Herzkreislaufstillständen, letalen Arrhythmien oder anderen kardiovaskulären Ereignissen [10, 11].

Neben der exkretorischen Funktionseinschränkung entwickelt sich ebenfalls eine insuffiziente endokrine Funktion der chronisch geschädigten Nieren. Bereits im Stadium der kompensierten Retention manifestiert sich durch die chronisch verminderte Synthese von Erythropoetin eine renale Anämie, die zumeist einer Substitutionstherapie bedarf.



Die Auswirkungen des mit der Niereninsuffizienz assoziierten sekundären Hyperparathyreoidismus zeigen sich häufig im gleichen klinischen Stadium durch erhöhte Phosphat- und erniedrigte Kalziumspiegel im Serum. In Kombination mit dem renal bedingten Mangel an aktivem Vitamin D (1,25-(OH)₂-Vitamin D₃) kann sich im Krankheitsverlauf die sogenannte renale Osteopathie entwickeln.

1.2 Nierenersatztherapie

Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz als Endstadium chronischer Nierenerkrankungen müssen zwingend einer Nierenersatztherapie im Rahmen eines Dialyseprogramms zugeführt werden, um die exkretorische Nierenfunktion ersetzen zu können.

Hierzu können Verfahren angewendet werden, die auf einem extrakorporalen Blutkreislauf beruhen. Drei dieser extrakorporalen Dialyseverfahren stehen dabei zur Verfügung:

Die *Hämodialyse* basiert auf dem Prinzip der Diffusion von Molekülen entlang eines Konzentrationsgefälles an einer semipermeablen Membran. Niedermolekulare Substanzen wie Wasser, Elektrolyte und harnpflichtige Substanzen können im Sinne eines Konzentrationsaustausches vom Blut in das Dialysat übergehen.

Der *Hämofiltration* liegt das Prinzip der Konvektion zu Grunde, wobei an der Filtermembran ein transmembranöses Druckgefälle maschinell aufrechterhalten wird, entlang dessen Plasmavolumen und alle filtergängigen Substanzen eliminiert werden können.

Hämodiafiltration stellt ein aus den zuvor genannten Methoden kombiniertes Verfahren dar, eignet sich besonders, um Substanzen sowohl niederer als auch mittlerer Molekülmasse dialysieren zu können und stellt meist das Verfahren der Wahl bei chronischer Niereninsuffizienz dar.

Die Ultrafiltration stellt eine Option dar, mit der dem Organismus neben den dialysablen Molekülen zusätzlich Wasser entzogen werden kann. Die Ultrafiltrationsrate bestimmt die Geschwindigkeit dieses Wasserentzuges und muss individuell festgelegt werden.



Alternativ zu den genannten Verfahren steht die Peritonealdialyse zur Verfügung, bei der das Peritoneum die Funktion einer Dialysemembran übernimmt und somit ein extrakorporaler Blutkreislauf vermieden werden kann.

Die extrakorporalen Dialyseverfahren werden im Rahmen des ambulanten chronischen Dialyseprogramms genutzt, um die Nierenfunktion terminal niereninsuffizienter Patienten gegebenenfalls mehrfach pro Woche über eine Dauer von drei bis fünf Stunden zu ersetzen.

1.3 Der dialysepflichtige Patient in der Atemgasanalytik

Die Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz, die sich einer Dialysebehandlung unterziehen müssen, unterliegen diversen negativen Nebeneffekten der Nierenersatztherapie, aus denen schwerwiegende kurz- sowie langfristige Komplikationen resultieren können. Bereits die operative Anlage eines für die Durchführung der Dialyse notwendigen Dialyseshunt bzw. eines Dialysekatheters bedeutet zusätzliche Belastungen für die Physis und Psyche des Patienten. Die damit verbundenen operativen Interventionen induzieren komplexe Entzündungskaskaden, führen zur Komplementaktivierung und stellen proinflammatorische Faktoren im Krankheitsgeschehen eines chronisch Nierenkranken dar. Es besteht zudem eine andauernde potentielle Keimexposition über diesen Dialyseshunt oder Gefäßzugang. Zusätzlich begünstigt die Dialysebehandlung selbst die inflammatorischen Prozesse im Organismus des Patienten.

Obschon die metabolischen Veränderungen unter Dialyse noch nicht vollständig verstanden sind, scheint der extrakorporale Blutkreislauf durch den Kontakt des menschlichen Blutes mit Fremdkörperoberflächen für diverse Komplikationen im Organismus eines Dialysepatienten verantwortlich zu sein. Aus dem Kontakt des Blutes mit den Dialysemembranen resultieren gesteigerte Lipidperoxidationsvorgänge an der Zellmembran, eine wenn auch gering ausgeprägte extravasale Hämolyse sowie eine Aktivierung des Komplement- und Zytokinsystems mit vermehrter entzündungsfördernder IL-1-Produktion durch Makrophagenaktivierung [12, 13].



Ein weiterer proinflammatorischer Faktor scheint nach Morena et al. die durch Hämodiafiltration bedingte Elimination von Antioxidantien aus dem Blutkreislauf zu sein, beispielhaft dargestellt an dem Dialyse induzierten Verlust von Ascorbinsäure aufgrund deren Wasserlöslichkeit [14].

Zudem führt Lonnemann Rückfiltrationsprozesse von Endotoxinen in den Blutkreislauf als einen das Entzündungsgeschehen zusätzlich begünstigenden Pathomechanismus an [15].

Zu weiteren wichtigen negativen Nebeneffekten, die aus der Durchführung einer Nierenersatztherapie resultieren können, zählen ebenfalls Hämodialyse assoziierte symptomatische Hypotensionen, die schon seit Jahrzehnten von zahlreichen Arbeitsgruppen wissenschaftlich untersucht werden. Klinisch kann sich eine solche intradialytische Hypotension (IDH) als symptomatische Kreislaufinstabilität bis hin zum Kreislaufkollaps mit Synkopen manifestieren. Als Ursache hierfür wurde neben einer inadäquaten Antihypertensiva-Therapie zum einen eine plötzlich einsetzende vagale Reaktion mit parasympathischer Überaktivität im Sinne des Bezold-Jarish-Reflexes angenommen [16]. Zum anderen scheint die durch Ultrafiltration induzierte Hypovolämie kausal mit einer verminderten kardialen Vorlast im Zusammenhang zu stehen und daher ursächlich für die Reduktion von Herzminutenvolumen und systolischem Blutdruck verantwortlich zu sein [17]. Insbesondere Patienten, die an einer linksventrikulären diastolischen Dysfunktion leiden, scheinen besonders sensibel auf die verminderte Vorlast des Herzens unter Hämodialyse zu reagieren [18].

Das Ausmaß der Hypotension unter Dialyse wird demnach maßgeblich durch die Ultrafiltrationsrate und die Menge des Ultrafiltrates bestimmt.

Diese Episoden der gestörten Blutdruckregulation mit klinisch manifesten Hypotensionen stellen ein nicht zu unterschätzendes Problem für die Patienten dar und scheinen auch eine entscheidende Rolle in der Pathogenese myokardialer Schädigungen zu spielen [19].



Die routinemäßig durchgeführten diagnostischen Verfahren bei Langzeitdialysepatienten zum Monitoring der genannten potentiellen Komplikationen und Nebenwirkungen bleiben bisher auf die Bestimmung konventioneller Laborparameter wie Retentionswerte, Elektrolytstatus und Blutbild sowie auf die Bildgebung zur Evaluation des Gefäßstatus in Hinblick auf das erhöhte Atheroskleroserisiko dieser Patienten beschränkt. Alle diese Parameter sind Ausdruck bereits abgelaufener pathologischer Stoffwechselfvorgänge und können somit lediglich das Resultat zugrunde liegender pathophysiologischer Prozesse objektivieren.

Die Untersuchung der chemischen Zusammensetzung der Ausatemluft stellt hingegen ein point-of-care-Diagnostikum dar und vermag die momentane Stoffwechselsituation augenblicklich abzubilden. Insbesondere in Bezug auf Hämodialysepatienten ist dieses sinnvoll, da die Nierenersatztherapie komplexe metabolische Veränderungen innerhalb von Minuten oder Stunden bewirken kann. Ein zusätzlicher Vorteil gegenüber konventionellen diagnostischen Methoden liegt in der Nichtinvasivität der Atemgasanalytik. Der dialysepflichtige Patient ist häufig ein multimorbider Patient, der vom Einsatz nichtinvasiver diagnostischer Methoden in besonderem Maße profitieren könnte.

Bei der Probengewinnung für atemgasanalytische Untersuchungen können physische Belastungen oder damit einhergehende Nebenwirkungen für den zu Untersuchenden nahezu vollständig vermieden werden. Die Atemgasanalytik stellt daher im Vergleich zu bereits etablierten diagnostischen Verfahren für den multimorbiden dialysepflichtigen Patienten ein ideales Diagnostikum dar.

Im Weiteren bietet die Atemgasanalytik die Möglichkeit, pathologische Stoffwechselprozesse nachvollziehen zu können, die im Rahmen von Routine-laboruntersuchungen unberücksichtigt bleiben. Zu diesen zählen z. B. durch akuten oxidativen Stress ausgelöste Reaktionen. Die hierbei vorherrschende Imbalance von Radikalbildung und antioxidativen Schutzmechanismen scheint ein wichtiger Faktor bei der erhöhten Krankheitsanfälligkeit der terminal Niereninsuffizienten zu sein.



Oxidativer Stress ist an der Entwicklung von Atherosklerose und kardiovaskulären Komplikationen bei terminal niereninsuffizienten Patienten beteiligt, wobei das Ausmaß des oxidativen Stresses mit dem Schweregrad der renalen Erkrankung korreliert [20, 21]. Die Arbeitsgruppe um Al-Hashimi konnte bei chronisch Niereninsuffizienten im Vergleich zu gesunden Probanden im Serum signifikant höhere Malondialdehyd (MDA)-Spiegel detektieren, wobei MDA als indirekter Marker für oxidativen Stress dient [22].

Die bei Dialysepatienten im Vergleich zu Gesunden nachgewiesenen verminderten Aktivitäten antioxidativer Enzymsysteme, wie beispielsweise der Glutathionperoxidase [13, 23], begünstigen zudem die Entstehung eines Ungleichgewichtes zu Lasten antioxidativer Schutzmechanismen und damit die beschleunigte sekundäre Krankheitsentstehung bei Langzeitdialysepatienten [24].

Mithilfe der Atemgasanalytik ist es bereits gelungen, flüchtige organische Substanzen, sogenannte VOCs (volatile organic compounds), in der Ausatemluft als Marker für oxidativen Stress bzw. für vermehrte Entzündungsaktivität im menschlichen Organismus zu etablieren [25]. Insbesondere Pentan und Ethan, die zur Stoffgruppe der n-Alkane gehören, gelten als Biomarker für oxidativen Stress. Sie werden mit den an der Zellmembran ablaufenden Lipidperoxidationsvorgängen in Verbindung gebracht [25-28]. Aus Peroxidation von Omega-3- und Omega-6-Fettsäuren als essentielle Bestandteile der Zellmembran resultiert u. a. die Entstehung von Pentan und Ethan.

Zu den VOCs, deren chemische Eigenschaften und metabolische Besonderheiten in vielen Studien bereits detailliert untersucht wurden, zählen Isopren und Aceton. Isopren (2-Methyl-1,3-Butadien) bildet einen großen Bestandteil der VOCs im expiratorischen Atemgasgemisch des Menschen [29, 30] und ist ein Stoffwechselnebenprodukt des Cholesterinmetabolismus [31, 32]. In einigen Publikationen wurden erhöhte Isoprenkonzentrationen im Atemgas als Ausdruck von Lipidperoxidationsvorgängen diskutiert oder nach Exposition gegenüber Ozon gemessen [33, 34]. Der Abatmung von Isopren wird außerdem von einigen Arbeitsgruppen eine zirkadiane Rhythmik unterstellt [35, 36].



Aceton lässt sich neben β -Hydroxybutyrat und Acetoacetat in die Gruppe der Ketonkörper einordnen, ist eine stark hydrophile Substanz und wird typischerweise bei gesteigerter Lipolyse gebildet. Außerdem ruft Aceton im Rahmen des hyperglykämisch entgleisten Diabetes mellitus den spezifischen Foetor ex ore des betroffenen Patienten hervor [25]. In höheren Atemgaskonzentrationen lässt sich Aceton bei lang anhaltender Nahrungskarenz [37, 38] sowie bei körperlicher Anstrengung nachweisen [39].

Eine weitere viel diskutierte volatile organische Substanz ist Dimethylsulfid (DMS), dessen Konzentrationserhöhungen schon seit langer Zeit mit dem Vorliegen einer Leberzirrhose in Verbindung gebracht wird [40]. DMS ist mit dem für chronische Lebererkrankungen typischen Foetor hepaticus assoziiert [41]. Außerdem soll aus der bakteriellen Besiedlung von Mundschleimhaut und Zahnfleisch eine Elevation von Dimethylsulfid im Atemgas resultieren [42].

Benzol zählt zu den aromatischen Kohlenwasserstoffen, zeichnet sich durch eine ausgeprägte Lipophilie aus und kommt industriell als viel verwendetes Lösungsmittel zum Einsatz.

Prinzipiell lassen sich die VOCs nach ihrem Entstehungsort klassifizieren. Während endogene VOCs im Organismus selbst entstehen, gelangen VOCs exogenen Ursprungs aus der Umgebungsluft über die Inspirationsluft in den Lungenstoffwechsel mit anschließender Aufnahme in den Blutkreislauf. Zu den klassischen Vertretern der exogenen VOCs zählt u. a. Ethanol, welches als Bestandteil von herkömmlichen Desinfektionsmitteln und einigen Arzneimitteln in der Raumluft in oft sehr hohen Konzentrationen vorkommt.

Die nichtinvasive Diagnostik basierend auf der Analyse des Atemgases als neues diagnostisches Medium hat durch den steten Fortschritt in Analytik und Methodentwicklung den Weg vom experimentellen zum praxisrelevanten Diagnostikum beschritten und wird in einigen klinischen Bereichen erfolgreich angewendet.

Seit etwa 20 Jahren ist die Kapnographie ein wichtiger Bestandteil des perioperativen sowie intensivmedizinischen Patienten-Monitorings.



Der mittels Kapnographie gemessene CO₂-Gehalt in der Ausatemluft des Patienten dient seitdem als unerlässlicher Parameter zur Kontrolle der Ventilation. Ein weiteres Beispiel für die erfolgreiche Entwicklung eines nichtinvasiven Diagnostikums lieferten Untersuchungen an Asthma-Patienten. Studien konnten aufdecken, dass aus inflammatorischen Reaktionen im Respirationstrakt die vermehrte Bildung und Abatmung von NO resultieren. NO konnte hierdurch als neuer Atemgasmarker für die Exazerbation eines Asthma bronchiale etabliert werden und wird derzeit zur Diagnostik und Therapiekontrolle bei dieser Patientengruppe herangezogen [43, 44].

Ein weiteres Einsatzgebiet der atemgasanalytischen Methoden, das mit großem wissenschaftlichen Interesse verfolgt wird, umfasst das Thema des nichtinvasiven Arzneimittel-Monitorings mittels Atemgasuntersuchungen. Insbesondere Antiinfektiva und Anästhetika nehmen diesbezüglich eine wichtige Position in experimentellen und klinischen Studien ein, in denen der Nachweis von statistisch signifikanten Korrelationen der Medikamentenkonzentrationen in Blut und Atemgas im Vordergrund stand [45-47].

Die vorliegende Arbeit soll mithilfe des Einsatzes der nichtinvasiven Atemgasanalytik zum Verständnis der komplexen pathophysiologischen Prozesse beitragen, die im Rahmen von Nierenersatzverfahren im menschlichen Organismus ablaufen.



1.4 Zielstellung

Ziel der Arbeit war es, zu klären, ob VOCs als endogene Biomarker im Atemgas wertvolle Informationen über Effektivität, Wirkungen und Nebenwirkungen der Hämodialyse oder das krankheitsspezifische Patientenprofil bei chronischer Niereninsuffizienz liefern können.

Folgende Fragestellungen wurden in der vorliegenden Dissertation untersucht:

1. Wie ändern sich die alveolaren Konzentrationen einzelner VOCs unter Hämodialyse? Welche (patho-)physiologischen Effekte liegen der entsprechenden Exhalationskinetik zugrunde?
2. Eignet sich Pentan als Biomarker für Hämodialyse induzierten oxidativen Stress?
3. Erfolgt bei terminal niereninsuffizienten Patienten die Abatmung von VOCs in Abhängigkeit von patientenspezifischen Charakteristika wie Alter, Geschlecht, Body-Mass-Index (BMI) oder medikamentöser Dauertherapie?
4. Lässt sich eine unter Hämodialyse auftretende Hämolyse anhand von VOCs im Atemgas verifizieren?
5. Kann die Effektivität einer Hämodialysebehandlung durch alveolare VOC-Konzentrationsänderungen abgebildet werden?

2 Material und Methoden

2.1 Patienten und Studiendesign

Nach Genehmigung der zuständigen Ethikkommission wurden in vorliegender Untersuchung 30 konsekutive Patienten über einen Zeitraum von neuneinhalb Monaten rekrutiert, die sich bei bestehender Niereninsuffizienz im chronisch-intermittierenden Hämodialyse-Programm dreimal wöchentlich für je drei bis fünf Stunden in einem ambulanten Dialysezentrum (KfH Rostock, Kuratorium für Dialyse und Nierentransplantation e. V.) einer Nierenersatztherapie unterzogen.

Nach Aufklärung des Patienten und mit dessen Einverständnis wurden im Verlauf einer Dialysebehandlung zu vier verschiedenen Zeitpunkten alveolare Atemgasproben und zweimalig eine peripher-venöse Blutprobe gewonnen (siehe Abb. 1).

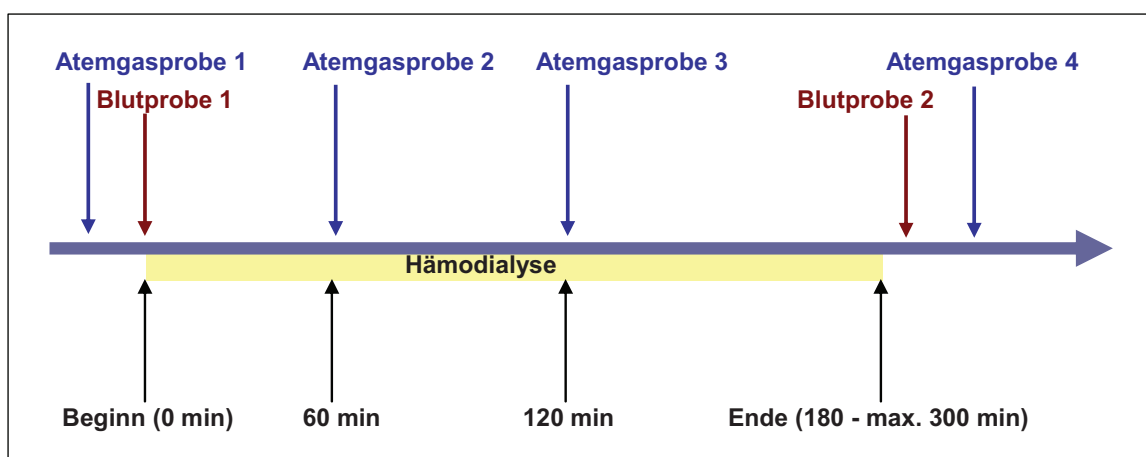


Abb. 1: Studiendesign

2.1.1 Epidemiologische Daten

Vor Beginn der Probennahme wurden patientenbezogene Daten wie Alter, Body-Mass-Index, Raucherstatus und Dauermedikation erhoben, sichtbar in Tabelle 1. Die Patienten wurden durchschnittlich seit einem Jahr und vier Monaten regelmäßig dialysiert.



Die Hämodialysebehandlung erfolgte bei nur zwei der 30 Patienten über einen doppellumigen Dialysekatheter (Demerskatheter), alle anderen Patienten profitierten von einer sogenannten Cimino-Brescia-Fistel an Unter- bzw. Oberarm.

Patient	Geschlecht	Alter (Jahre)	BMI (kg/m ²)	Nikotin- abusus (pack years)	Statin	ACE- Hemmer	Sartan	Diuretikum	PPI
1	m	70	25,71	0					x
2	m	66	29,70	0		x			x
3	w	76	26,72	0	x	x			x
4	m	79	20,83	0					x
5	w	69	38,01	0			x		
6	w	69	31,13	0				x	
7	w	71	30,22	0		x			x
8	m	45	22,74	11					
9	w	85	23,94	0					x
10	m	68	27,31	0				x	x
11	m	42	21,52	37			x		x
12	w	76	34,21	0		x		x	x
13	m	65	27,26	0	x	x		x	x
14	m	77	28,56	0			x	x	
15	w	44	14,87	28	x				x
16	w	39	22,00	0					x
17	m	52	21,40	24		x		x	x
18	w	82	29,27	35			x	x	x
19	m	70	28,95	15		x		x	x
20	m	68	33,29	15	x	x			
21	m	82	23,35	10				x	x
22	w	56	22,21	0		x		x	
23	m	84	19,78	13		x		x	x
24	w	47	26,06	0,5				x	x
25	w	52	29,37	1		x		x	x
26	m	73	25,69	5,5		x		x	x
27	m	63	27,75	16		x			
28	w	42	24,57	1,5	x	x			x
29	m	73	29,70	0	x	x		x	
30	m	63	26,16	30	x			x	

Tab.1: Epidemiologische Patientendaten

- BMI - Body-Mass-Index
- Statin - HMG-CoA-Reduktase-Inhibitor
- ACE-Hemmer - Inhibitor des Angiotensin-konvertierenden Enzyms
- Sartan - AT₁-Rezeptorantagonist
- PPI - Protonenpumpeninhibitor

2.1.2 Ursachen der Dialysepflichtigkeit

Die Rekrutierung der Patienten erfolgte unabhängig von der der Dialysepflichtigkeit zugrunde liegenden Erkrankung sowie von vorhandenen Nebendiagnosen.

Die Häufigkeiten der für die vorliegende Dialysepflichtigkeit ursächlichen Erkrankungen sind Abbildung 2 zu entnehmen.

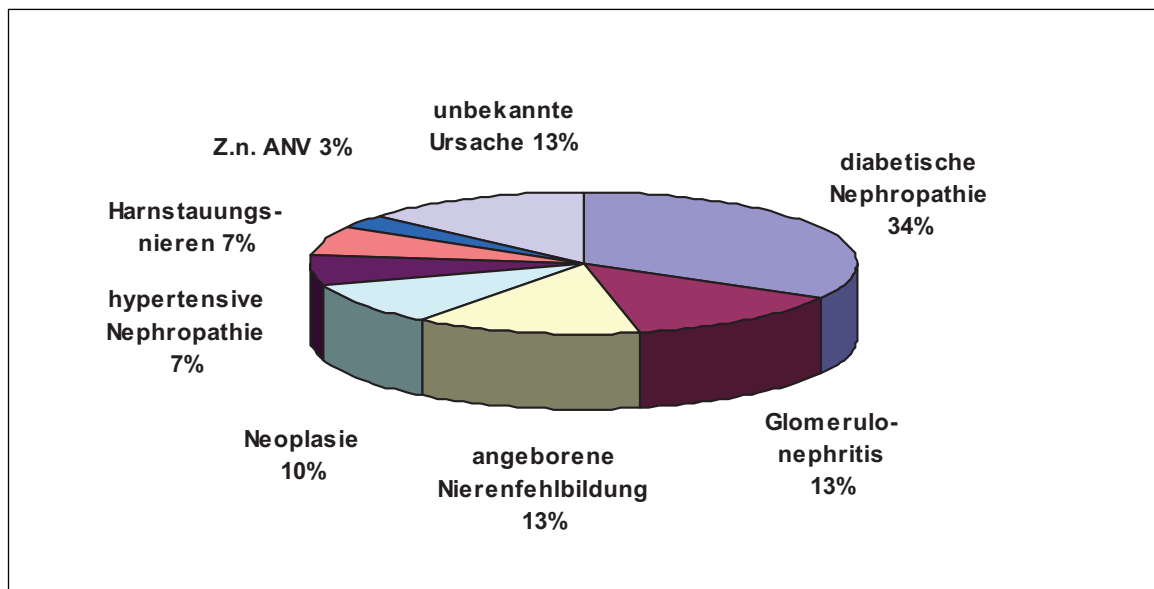


Abb. 2: Ursachen der Dialysepflichtigkeit und deren prozentuale Verteilung, bezogen auf die Gesamtheit der Patienten
ANV – akutes Nierenversagen

2.1.3 Komorbiditäten der rekrutierten dialysepflichtigen Patienten

Abbildung 3 demonstriert die vorhandenen Begleiterkrankungen und deren quantitative Verteilung im rekrutierten Patientenkollektiv.

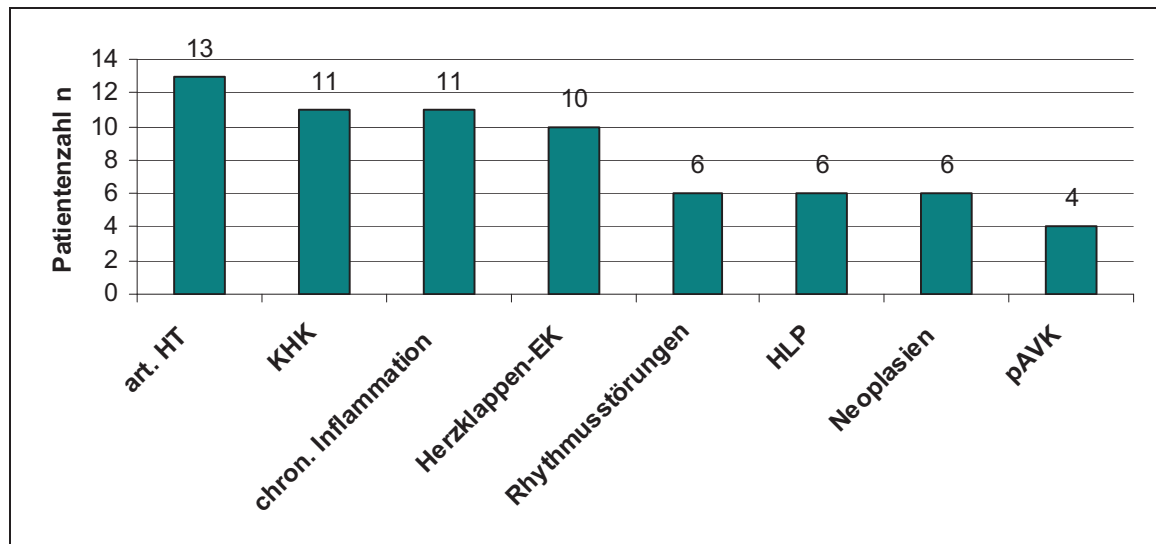


Abb. 3: Komorbiditäten der untersuchten dialysepflichtigen Patienten

- art. HT - arterielle Hypertonie
- KHK - koronare Herzkrankheit
- EK - Erkrankung
- HLP - Hyperlipoproteinämie
- pAVK - periphere arterielle Verschlusskrankheit

2.1.4 Physiologische Parameter

Zum Zeitpunkt einer jeden Probengewinnung wurden physiologische Parameter des Patienten wie Atemfrequenz (1/min), endtidaler CO₂-Partialdruck (kPa), Blutdruck (mmHg) und Herzfrequenz (1/min) erfasst und dokumentiert.

Zur Abschätzung von Veränderungen des Herzzeitvolumens (HZV) wurde das Produkt aus arteriellem Mitteldruck (MAD) und der Herzfrequenz bestimmt. Der errechnete Wert wird nachfolgend als Druck-Frequenz-Produkt (DFP) bezeichnet.

2.2 Atemgasprobennahme

In Vorbereitung auf jede Atemgasprobengewinnung wurde der entsprechende Behandlungsraum fünf Minuten lang durch Öffnen der Fenster gelüftet, um möglichst standardisierte Raumlufbedingungen zu gewährleisten.

Die Gewinnung der Atemgasproben erfolgte mithilfe eines entsprechenden Probennahmegerätes (siehe Abb. 7) und unter Verwendung eines Kapnometers (Capnogard, Novamatrix Medical Systems Inc., Wallingford, CT, USA). Die visuelle Kontrolle des endtidalen CO_2 -Partialdruckes ermöglichte die Probenahme während der Alveolarphase des Atemzyklus.

Zu jedem der zuvor festgelegten Abnahmezeitpunkte wurde eine zweifache Probengewinnung zur späteren Doppelmessung durchgeführt.

Im Anschluss daran wurde die Raumlufprobe gewonnen.

2.2.1 Vorbereitung der Atemgasprobengewinnung

Vor der Gewinnung der Atemgasproben wurde das Abnahmegerät vorbereitet. Dafür wurden zweimal je vier Winkelstücke konnektiert und anschließend durch eine CO_2 -Messküvette sowie ein T-förmiges Verbindungsstück aus Metall verbunden. Schließlich erfolgte das Aufsetzen eines Mundstückes (siehe Abb. 4). Alle verwendeten Bestandteile wurden vor Gebrauch desinfiziert und bei $60\text{ }^\circ\text{C}$ für 30 Minuten ausgeheizt.

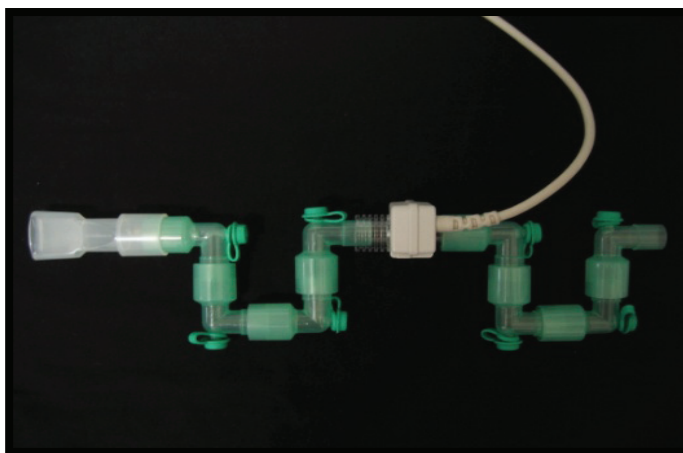


Abb. 4: Probennahmegerät mit u-förmiger Wasserfalle, Mundstück und CO_2 -Messküvette

Während sich der Patient bereits in Ruhe befand, um Atemzyklus und Kreislauf zu stabilisieren, wurde die Kalibrierung des Kapnometers gegen Raumluft vorgenommen.

Maximal zehn Minuten vor Probennahme wurden die zuvor mit reinem Stickstoff gespülten und mit Bördelkappen und Silikon-Septen verschlossenen Proben­gläschen mittels einer 20-ml-Glasspritze und einer dünnen Kanüle evakuiert.

2.2.2 Durchführung der Atemgasprobengewinnung

Der Patient atmete während der Probennahme unter Verwendung des Mundstückes normal, ruhig und ausschließlich durch den Mund durch das Probennahmegerät (siehe Abb. 5).



Abb. 5: Einsatz des Probennahmegeräts am Dialysepatienten

Zur Probennahme wurde eine gasdichte 20-ml-Glasspritze über die Luer-Lock-Verbindung an die Öffnung des Metall-T-Stücks nach der u-förmigen Wasserfalle gesetzt, sodass die Gewinnung von mindestens 13 ml Ausatemluft unter Kontrolle des endexpiratorischen CO_2 -Partialdruckes während der alveolaren Phase des Atemzyklus erfolgen konnte. Die Probennahme mit der Spritze erfolgte in der vom Kapnometer abgebildeten Plateauphase des Kapnogramms (siehe Abb. 6 und Abb. 8 a+b).



Abb. 6: Kapnometer: Anzeige der Atemfrequenz und des CO₂-Partialdruckes im Verlauf des Atemzyklus

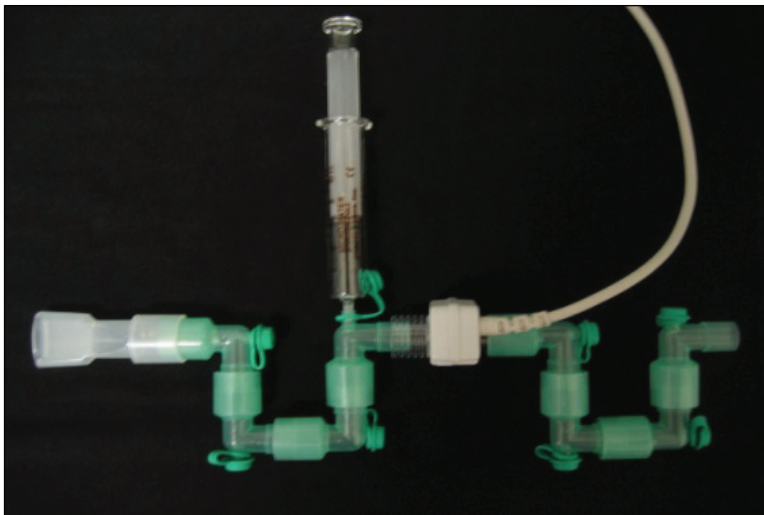


Abb. 7: Probennahmegerät mit aufgesetzter Glasspritze

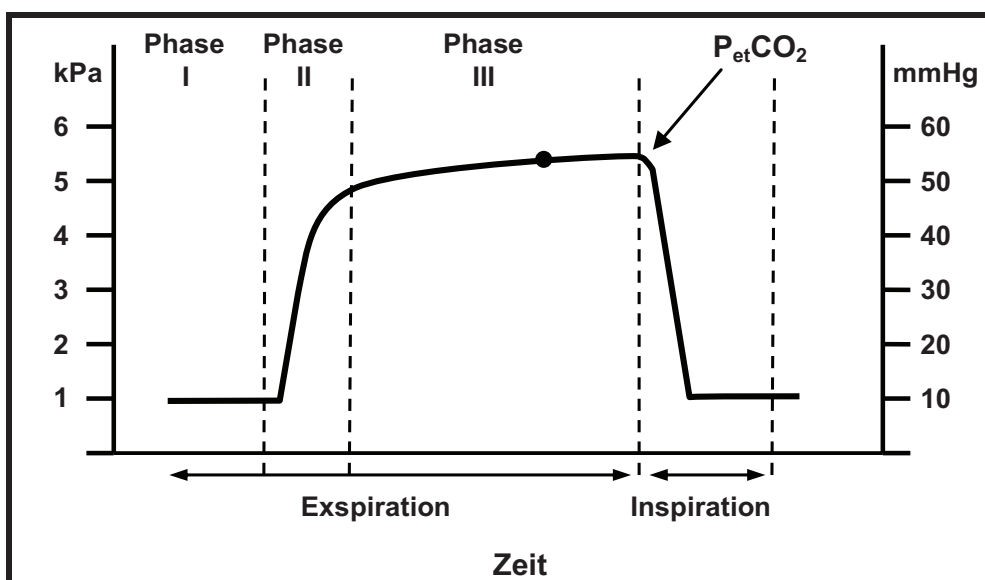
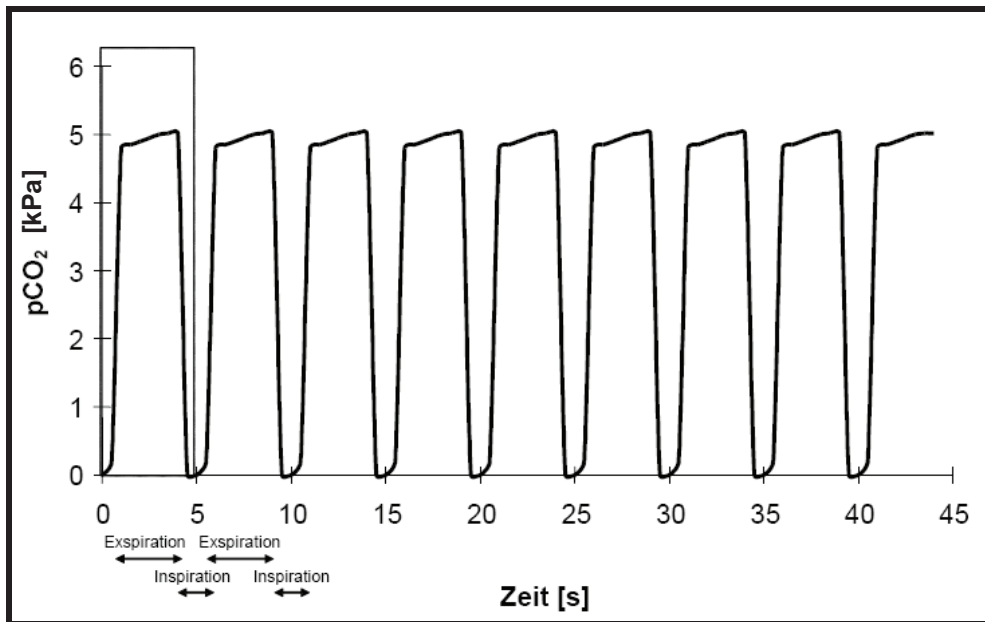


Abb. 8 a+b: CO₂-Partialdruck im zeitlichen Verlauf des Atemzyklus (a) und Zeitpunkte der visuell kontrollierten Atemgasprobennahme (b).

- I: CO₂-freie Inspirationsphase
- II: gemischte Phase, inklusive Totraumvolumen
- III: Alveolarphase
- P_{et} CO₂: endtidaler CO₂-Partialdruck



Zur Vermeidung von Kontaminationen wurde die Spritze durch Verwerfen der jeweils ersten Probe gespült.

Die mit der Atemgasprobe gefüllte Spritze wurde unter manueller Fixierung des Spritzenstempels vom T-Stück gelöst. Nach Aufsetzen einer dünnen Kanüle auf die Spritze folgte die Einstellung des Atemgasvolumens in der Spritze auf genau 10 ml nach dem angegebenen Eichstrich. Der Rest der Atemgasprobe wurde verworfen.

Mittels der Kanüle wurde das Septum des Probengläschens perforiert und genau 10 ml des Atemgases überführt. Die Probe zog sich durch den im Gläschen vorhandenen Unterdruck von selbst aus der Spritze ins Gläschen. Zwischen Kanüle und Spritze wurde die Luer-Lock-Verbindung getrennt. Die Kanüle verblieb für weitere drei Sekunden im Septum und sorgte so für einen für die weitere Analytik erforderlichen Druckausgleich des Probengläscheninhalts mit dem Außendruck.

2.3 Blutprobennahme

Zur Bestimmung konventioneller Laborparameter (siehe unten) wurden den rekrutierten Patienten vor Beginn und nach Beendigung der Hämodialyse über die abführende Dialysekanüle mittels einer Lithium-Heparin-Monovette Blutproben von je 2,7 ml venösem Blut entnommen.

2.4 Probenanalytik

2.4.1 Atemgasproben

Die volatilen organischen Substanzen in den Atemgasproben wurden zunächst präkonzentriert und anschließend mittels Gaschromatographie aufgetrennt und mittels Massenspektrometrie detektiert und quantifiziert.

Um die Anreicherung der nur im Spurenbereich in der Probe vorhandenen Substanzen zu erzielen, wurde die Methode der Festphasenmikroextraktion (solid phase micro extraction, SPME) angewandt.



Für die automatisierte Präkonzentration kam ein CTC Multi Purpose Sampler (PAL, Zwingen, Schweiz) ausgestattet mit einer CAR/PDMS-SPME-Faser (Carboxen/polydimethylsiloxane, Supelco, Bellefonte, PA, USA) zum Einsatz.

Die Auftrennung des Gasgemisches erfolgte mithilfe eines Gaschromatographen (GC; Varian 3800, Walnut Creek, CA, USA) mit dem im Folgenden beschriebenen Temperaturprogramm. Helium mit einer Flussrate von 1,7 ml/min diente als Trägergas. Die initiale Ofentemperatur des GC betrug 90 °C und wurde für eine Dauer von sieben Minuten beibehalten. Danach wurde die Temperatur um 10 °C pro Minute auf 140 °C erhöht und bei dieser Temperatur für sieben Minuten konstant gehalten. Anschließend wurde die Temperatur um 15 °C pro Minute bis zum Erreichen der maximalen Temperatur von 260 °C gesteigert und dort für fünf Minuten gehalten.

Mittels eines an das GC gekoppelten Massenspektrometers (Varian Saturn 2100, Walnut Creek, CA, USA) wurden die einzelnen volatilen Komponenten identifiziert und quantifiziert. Die Identifizierung der Substanzen erfolgte anhand der durch electron-impact Ionisierung (70 eV) erzeugten Fragmente im Massenspektrum. Die Quantifizierung der VOCs erfolgte mithilfe spezifischer Massenspuren (m/z) im Vergleich mit Gasgemischen definierter Substanzkonzentrationen.

Diese für die Atemgasanalytik verwendeten Verfahren sind standardisierte Methoden und wurden im Rahmen dieser Studie wie in der Literatur beschrieben angewendet [48].

Die Angabe der alveolaren Konzentrationen der VOCs erfolgte in der Einheit ppbv (parts per billion by volume). Mit dem Ziel der Vergleichbarkeit vorliegender Ergebnisse mit publizierten Untersuchungen wurde auf die Konzentrationsangabe in der SI-Einheit (nmol/l) verzichtet.

2.4.2 Blutproben

Über das Zentrallabor der Universität Rostock wurden mittels standardisierter Analytik der Blutproben die konventionellen Laborparameter Kreatinin, Harnstoff, sowie Laktatdehydrogenase (LDH) und freies Hämoglobin (fHb) bestimmt.



Kreatinin und Harnstoff sind bekannte Nierenretentionsparameter, die in Zusammenschau mit anderen Parametern, wie z. B. der glomerulären Filtrationsrate, der Einschätzung der renalen Funktion dienen.

Freies Hämoglobin zählt zu den im Serum bestimmbaren Hämolyseparametern. Es bildet bei über den Referenzbereich erhöhten Werten eine im Organismus auftretende Hämolyse ab.

Die LDH ist ein Enzym, dessen Serumaktivität bei gesteigertem Zellzerfall, wie z. B. im Rahmen hämolytischer Prozesse, aber auch bei progressiven Tumorerkrankungen im Organismus ansteigt.

2.5 Statistik

Alle im Rahmen der vorliegenden Arbeit erhobenen Daten wurden mithilfe eines Datenbank- und Tabellenkalkulationsprogramms (Microsoft Access und Excel) verwaltet. Die Ergebnisse normalverteilter Daten wurden als Mittelwert und Standardabweichung, die nicht-normalverteilter Daten als Median und 25-75-%-Perzentile angegeben und dargestellt.

Die statistische Auswertung und graphische Darstellung erfolgte mit der SigmaPlot Software (Jandel Corp., San Rafael, USA) und mittels Microsoft Excel.

Die Ergebnisse normalverteilter Daten wurden als Säulendiagramme, die nicht-normalverteilter Daten als Box Plots abgebildet.

Die ermittelten Daten wurden auf Normalverteilung und Gleichheit der Varianzen untersucht. Waren diese Voraussetzungen erfüllt, konnte eine Einfach-Varianzanalyse (ANOVA), anderenfalls die Kruskal-Wallis-Varianzanalyse zum Einsatz kommen (ANOVA on ranks).

Multiple Vergleiche zwischen Patientengruppen erfolgten mittels Friedman Repeated Measures Analysis of Variance (RM ANOVA) für normalverteilte und RM ANOVA on ranks für nicht-normalverteilte Daten.



Für den Vergleich zweier Versuchsgruppen wurde bei normalverteilten Daten der Student's t-Test beziehungsweise bei nicht-normalverteilten Daten der Mann-Whitney-Rank-Sum-Test durchgeführt.

Der Korrelationskoeffizient nach Pearson wurde für normalverteilte Daten verwendet, wohingegen der Spearman Korrelationskoeffizient bei nicht-normalverteilten Daten angegeben wurde.

Statistische Signifikanz wurde bei einem $p < 0,05$ angenommen.

Für einen interindividuellen Vergleich der Substanzkonzentrationen in der Ausatemluft im Verlauf der Dialyse wurden die entsprechenden Absolutkonzentrationen auf den ersten Messzeitpunkt vor Beginn der Dialyse normiert (c_x/c_1).

Hierdurch konnten zum einen Effekte der inspiratorischen Substanzkonzentrationen weitestgehend eliminiert werden, zum anderen diente jeder Patient als eigene Kontrolle. Relative Konzentrationsänderungen konnten somit herausgestellt werden, wodurch interindividuelle Unterschiede bezüglich der Abatmung von VOCs übersichtlicher abgebildet werden konnten.



3 Ergebnisse

3.1 Konzentrationsänderungen der VOCs im zeitlichen Verlauf einer Dialysebehandlung

Die Tabellen 2 und 3 sowie die Abbildungen 9 a-f zeigen die alveolaren Konzentrationen der untersuchten VOCs zu den vier Messzeitpunkten im zeitlichen Verlauf einer Dialysebehandlung. Tabelle 2 und die Abbildungen beinhalten die auf den ersten Messpunkt normierten Messdaten, wobei die absoluten VOC-Konzentrationen (in ppbv) der Tabelle 3 zu entnehmen sind.

Substanz	1	normiert (c_x/c_1)			p
		2	3	4	
Isopren	1	0,86 (0,75; 0,97)	0,98 (0,83; 1,20)	1,36 (1,11; 1,56)	< 0,001
Aceton	1	0,79 (0,61; 0,98)	0,66 (0,53; 0,78)	0,61 (0,48; 0,72)	< 0,001
Pentan	1	1,27 (0,99; 1,70)	1,16 (0,86; 1,41)	0,97 (0,74; 1,14)	0,002
Ethanol	1	1,18 (0,94; 2,28)	1,21 (0,90; 1,52)	1,04 (0,87; 1,34)	0,002
Benzol	1	0,84 (0,73; 0,98)	0,80 (0,59; 0,91)	0,79 (0,59; 0,90)	< 0,001
DMS	1	0,94 (0,65; 1,36)	0,91 (0,55; 1,23)	0,74 (0,43; 1,19)	0,134

Tab. 2: VOC-Konzentrationsänderungen im Verlauf einer Dialysebehandlung; normiert auf den jeweiligen Messwert am Messzeitpunkt 1; n = 30 [Median (25-Perzentil; 75-Perzentil)]; p aus Friedman RM ANOVA statistische Signifikanz bei $p < 0,05$

Substanz	1	ppbv			p
		2	3	4	
Isopren	82,2 (45,6; 117,3)	67,5 (38,9; 101,9)	83,3 (46,3; 112,0)	106,1 (66,6; 145,7)	<0,001
Aceton	779,2 (496,4; 1108,4)	529,6 (355,4; 1008,5)	454,9 (311,3; 888,9)	423,9 (282,0; 902,8)	<0,001
Pentan	0,8 (0,3; 2,3)	1,3 (0,8; 2,4)	1,3 (0,6; 2,5)	0,8 (0,4; 2,1)	0,001
Ethanol	150,7 (73,6; 256,0)	205,1 (102,3; 320,7)	173,4 (82,7; 319,5)	135,6 (83,1; 267,0)	0,002
Benzol	1,6 (1,2; 2,8)	1,5 (1,0; 2,2)	1,3 (0,9; 2,1)	1,3 (0,8; 2,0)	<0,001
DMS	2,7 (0,0; 10,1)	2,3 (0,0; 13,6)	2,9 (0,0; 11,9)	1,9 (0,0; 10,3)	0,378

Tab. 3: VOC-Konzentrationen in ppbv im Verlauf einer Dialysebehandlung (Messzeitpunkt 1-4); n = 30; [Median (25-Perzentil; 75-Perzentil)]; p aus Friedman RM ANOVA; statistische Signifikanz bei $p < 0,05$

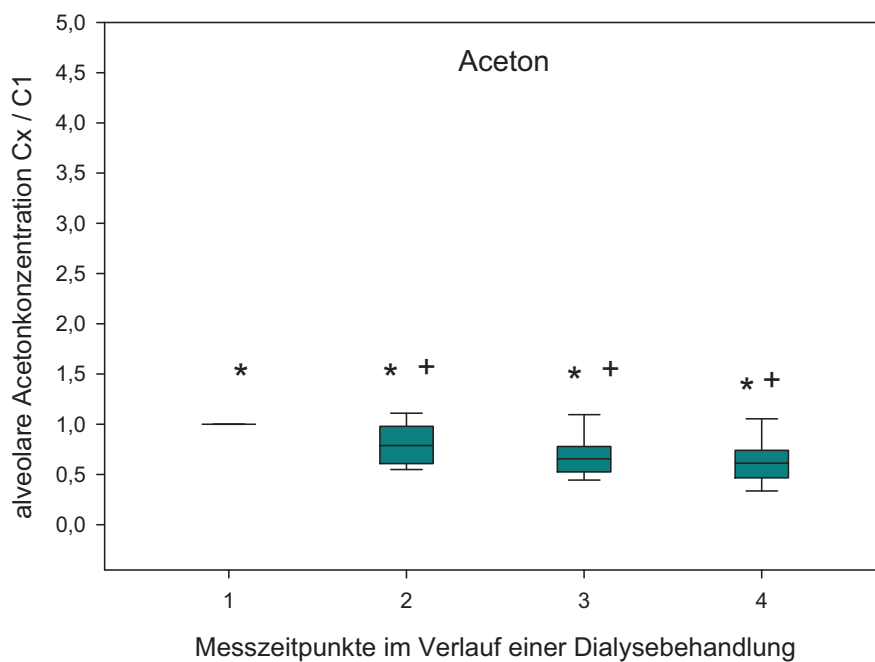
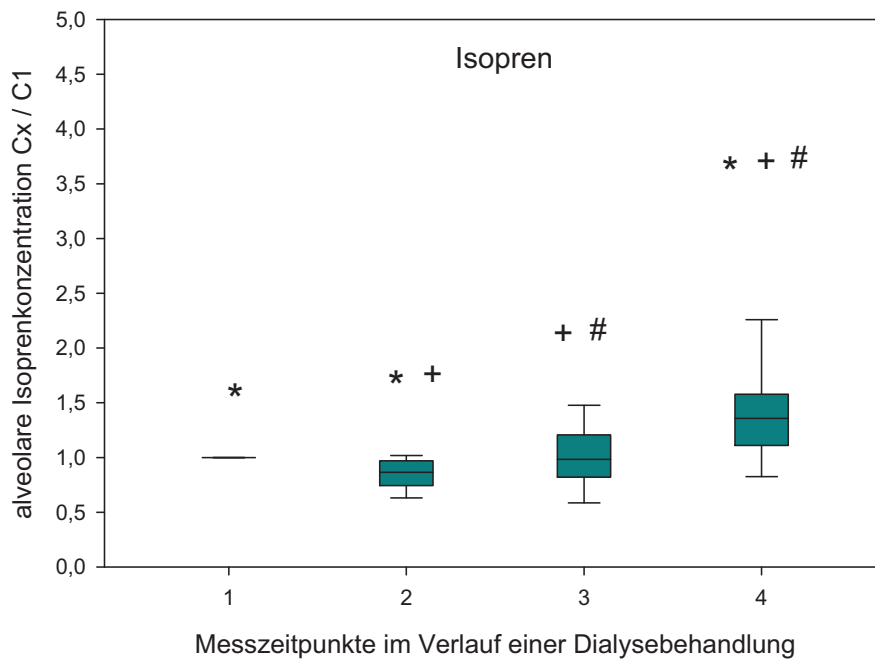


Abb. 9 a+b: Verlauf der Konzentrationsänderungen von Isopren und Aceton während der Dialysebehandlung, normiert auf den jeweiligen Messwert am Messzeitpunkt 1; n = 30
Median, 25- und 75-Perzentil; *, +, # signifikanter Unterschied ($p < 0,05$)

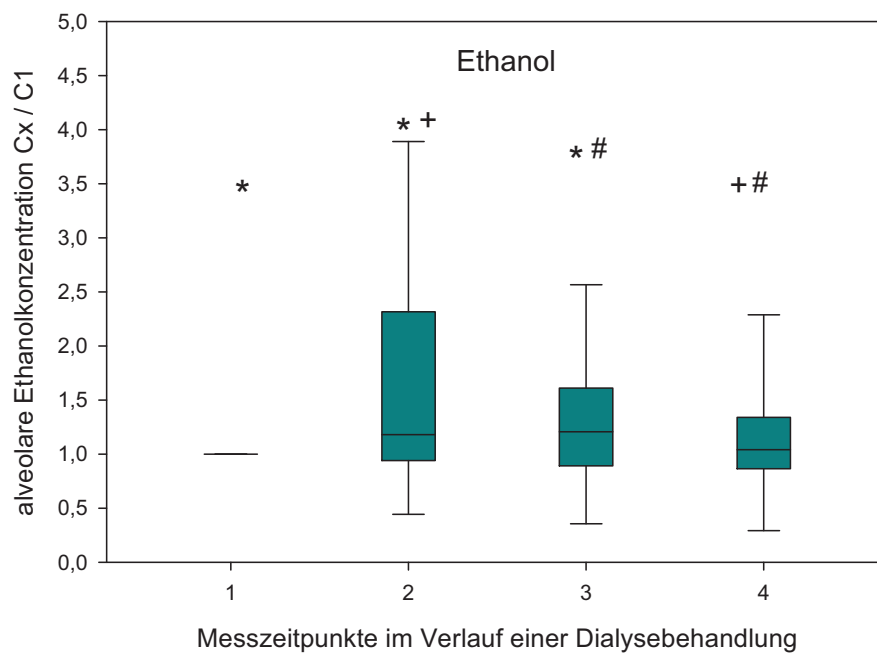
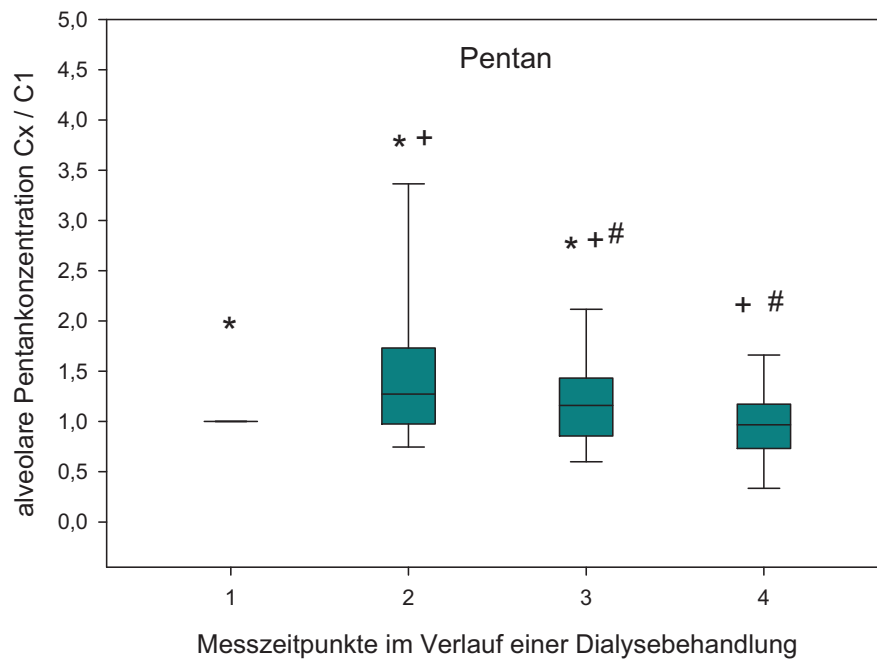


Abb. 9 c+d: Verlauf der Konzentrationsänderungen von Pentan und Ethanol während der Dialysebehandlung, normiert auf den jeweiligen Messwert am Messzeitpunkt 1; n = 30
Median, 25- und 75-Perzentil; *, +, # signifikanter Unterschied ($p < 0,05$)

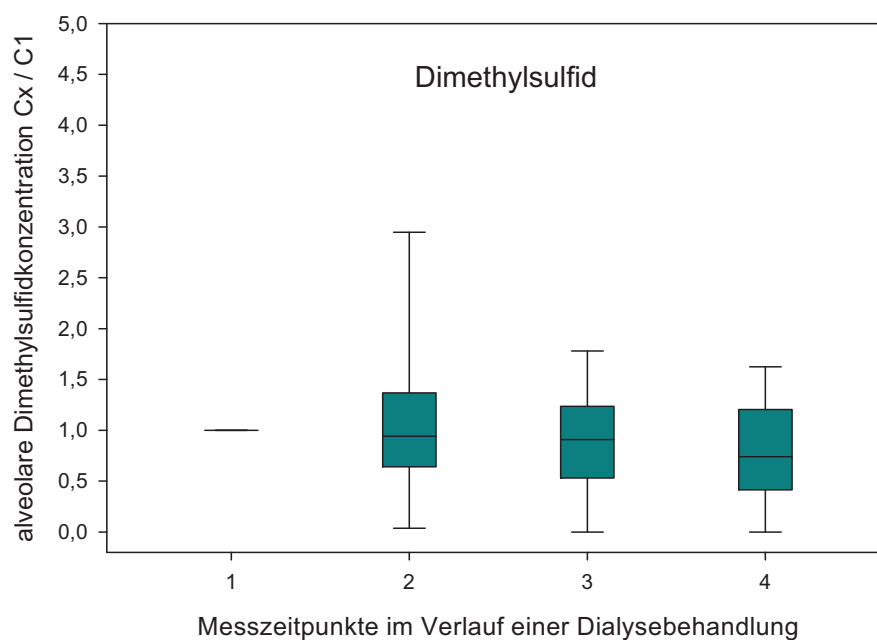
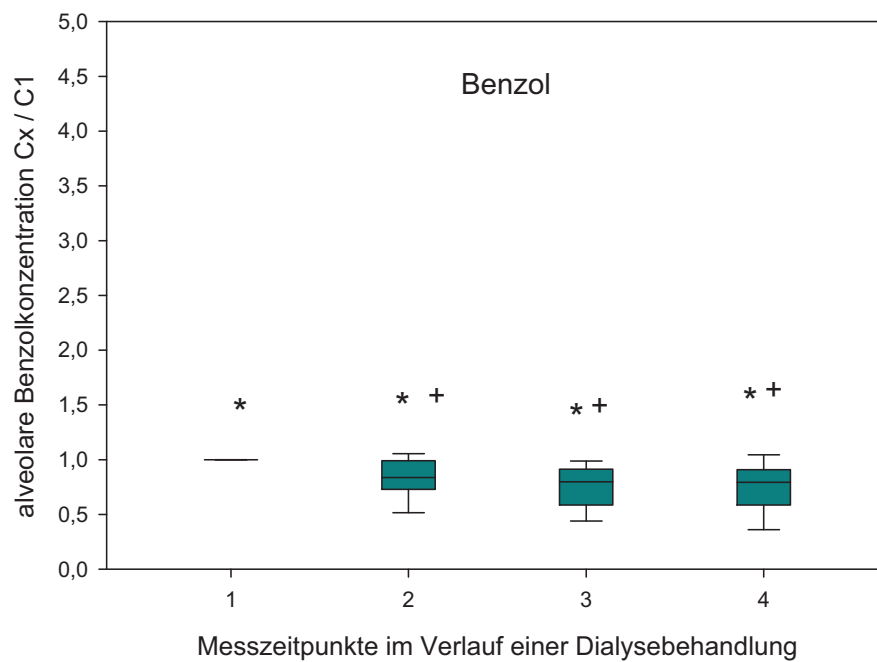


Abb. 9 e+f: Verlauf der Konzentrationsänderungen von Benzol und Dimethylsulfid während der Dialysebehandlung, normiert auf den jeweiligen Messwert am Messzeitpunkt 1; n = 30
Median, 25- und 75-Perzentil; *, +, # signifikanter Unterschied ($p < 0,05$)



3.2 Konzentrationsänderungen von VOCs und Änderungen des Druck-Frequenz-Produktes im Verlauf einer Dialysebehandlung

Tabelle 4 und Abbildung 10 zeigen die normierten Messdaten der Isoprenkonzentrationen sowie der entsprechenden Druck-Frequenz-Produkte im Verlauf einer Dialysebehandlung. Es besteht eine statistisch signifikante Korrelation zwischen der Isoprenkonzentration im Atemgas und dem Druck-Frequenz-Produkt zum Messzeitpunkt 4 ($p = 0,0492$ und $r = 0,362$).

		normiert (DFP _x / aDFP1 bzw. c _x / c ₁)				
	1	2	3	4	p	
DFP	1	0,88 (0,74; 0,95)	0,86 (0,71; 0,92)	0,89 (0,81; 1,06)	< 0,001	
Isopren	1	0,86 (0,75; 0,97)	0,98 (0,83; 1,20)	1,36 (1,11; 1,56)	< 0,001	

Tab. 4: Druck-Frequenz-Produkt und alveolare Isoprenkonzentrationen in ppbv im Verlauf einer Dialysebehandlung (Messzeitpunkt 1-4); $n = 30$ [Median (25-Perzentil; 75-Perzentil)]; p aus Friedman RM ANOVA bzw. Kruskal-Wallis One Way ANOVA; statistische Signifikanz bei $p < 0,05$

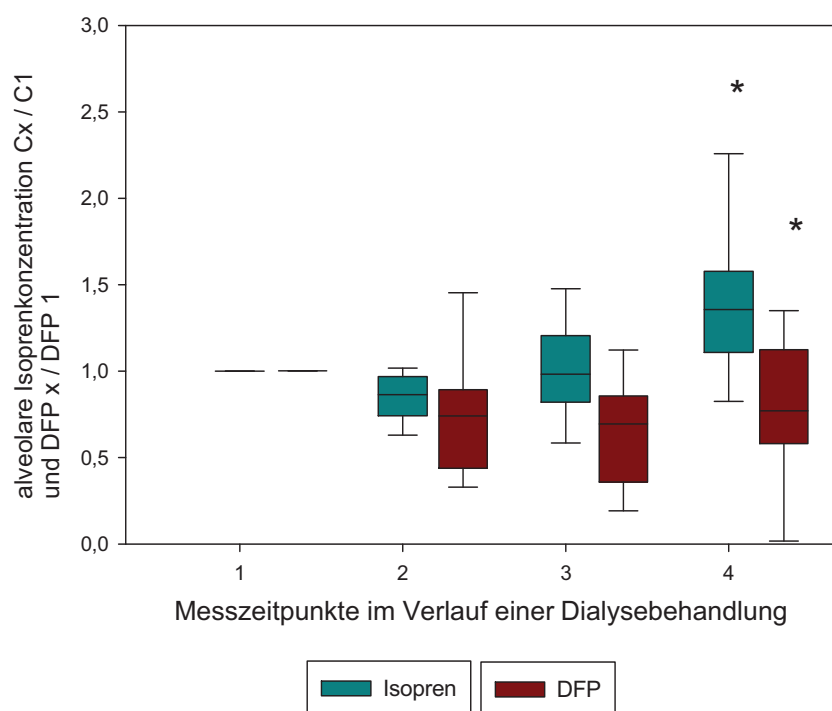


Abb. 10: Verlauf der Konzentrationsänderungen von Isopren und des Druck-Frequenz-Produktes während der Dialysebehandlung, normiert auf den jeweiligen Messwert am Messzeitpunkt 1; $n = 30$; Median, 25- und 75-Perzentil; * statistisch signifikante Korrelation ($p < 0,05$)



3.3 Vergleich von VOC-Atemgaskonzentrationen zwischen Patienten mit und ohne Diabetes mellitus

Tabelle 5 und Abbildung 11 a-c zeigen die Messdaten zum Vergleich der alveolaren Atemgaskonzentrationen von Isopren, Aceton und Pentan im Gruppenvergleich zwischen Patienten mit versus ohne insulinpflichtigen Diabetes mellitus, jeweils im Verlauf des Beobachtungszeitraumes.

Isopren in ppbv		
Messzeitpunkt	Diabetes mellitus (n = 10)	kein Diabetes mellitus (n = 20)
1	74,8 (45,5; 119,9)	82,2 (49,6; 106,0)
2	62,4 (31,4; 93,8)	67,5 (46,3; 104,7)
3	73,4 (26, 8; 102,8)	83,3 (57,5; 115,0)
4	105,9 (40,9; 139,7)	106,1 (68,2; 178,5)
Aceton in ppbv		
Messzeitpunkt	Diabetes mellitus (n = 10)	kein Diabetes mellitus (n = 20)
1	530,6 (335,1; 903,2)	848,4 (599,8; 1222,9)
2	445,9 (325,7; 832,1)	651,1 (422,1; 1037,9)
3	386,6 (308,0; 643,8)	535,2 (325,9; 994,3)
4	302,7 (232,6; 517,3)	457,9 (289,8; 961,0)
Pentan in ppbv		
Messzeitpunkt	Diabetes mellitus (n = 10)	kein Diabetes mellitus (n = 20)
1	0,8 (0,5; 2,3)	0,9 (0,2; 2,3)
2	1,3 (0,6; 2,2)	1,3 (1,0; 2,6)
3	1,0 (0,5; 2,8)	1,4 (0,6; 2,1)
4	0,4 (0; 2,1)	0,9 (0,5; 1,8)

Tab. 5: VOC-Konzentrationen in ppbv im Verlauf einer Dialysebehandlung (Messzeitpunkt 1-4) im Vergleich zwischen Patienten mit und ohne Diabetes mellitus; [Median (25-Perzentil; 75-Perzentil)]

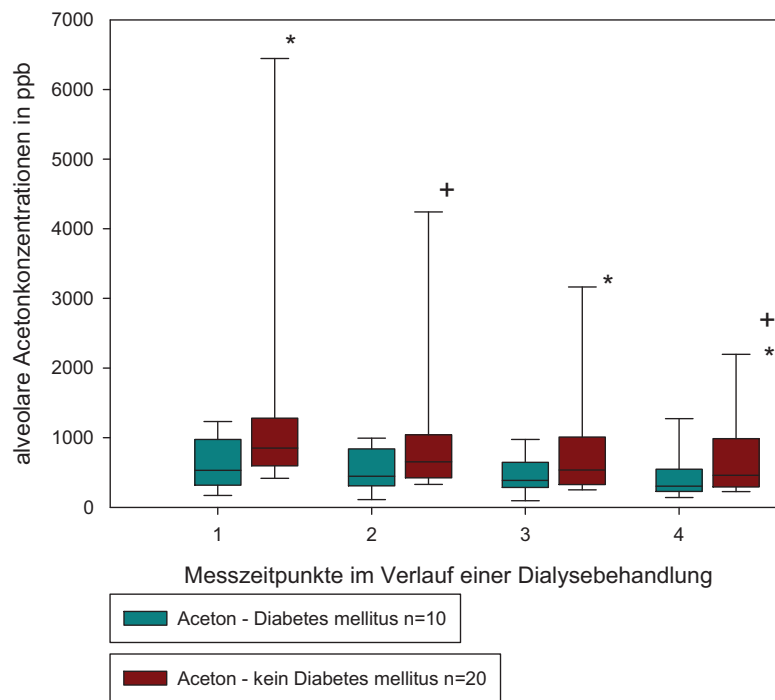
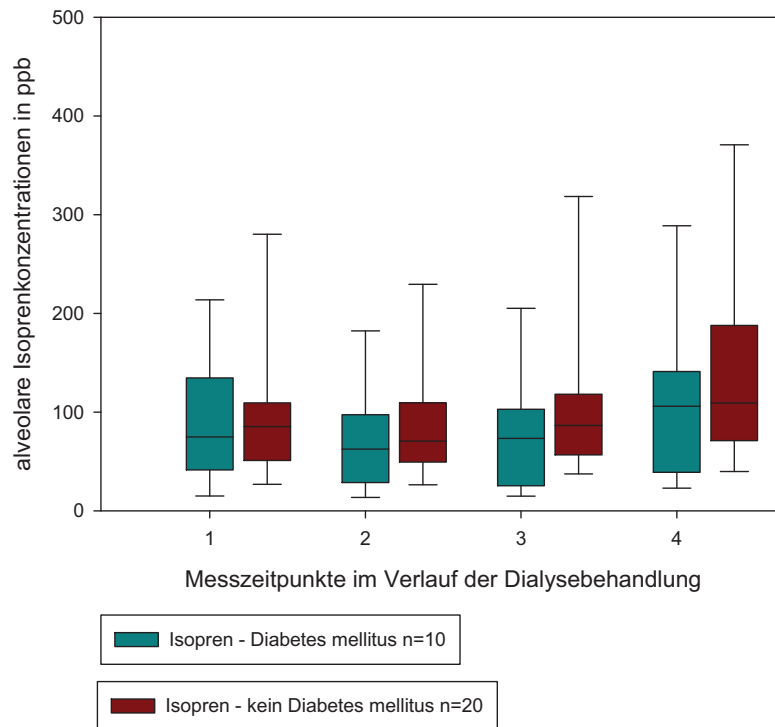


Abb. 11 a+b: Isopren- und Acetonkonzentrationen im Atemgas in ppbv im Gruppenvergleich Patienten mit versus ohne Diabetes mellitus während der Dialysebehandlung

Median, 25- und 75-Perzentil; *, + statistische Signifikanz ($p < 0,05$)

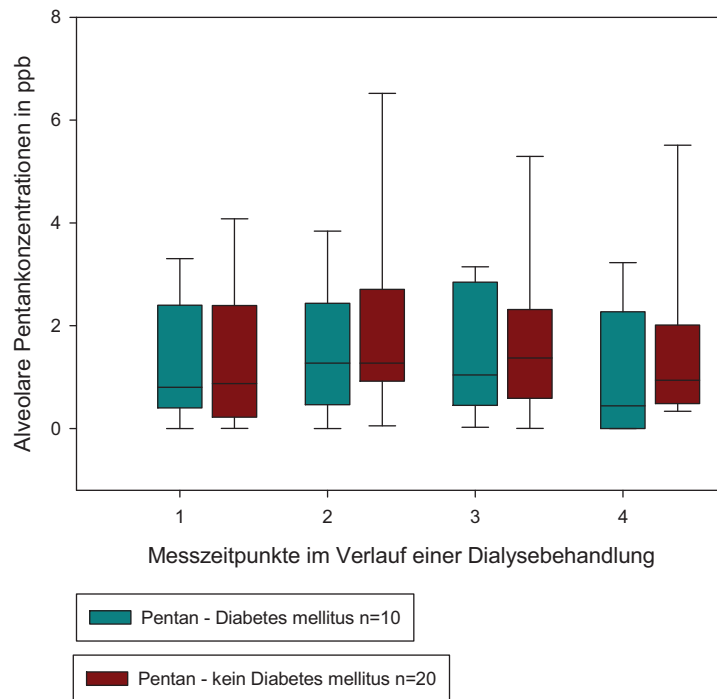


Abb. 11 c: Pentankonzentrationen im Atemgas in ppbv im Gruppenvergleich Patienten mit versus ohne Diabetes mellitus während der Dialysebehandlung; Median, 25- und 75-Perzentil; *, + statistische Signifikanz ($p < 0,05$)



3.4 Vergleich von VOC-Atemgaskonzentrationen zwischen weiblichen und männlichen Patienten

Der Tabelle 6 sind die alveolaren Atemgaskonzentrationen von Isopren, Aceton und Pentan im Vergleich zwischen weiblichen und männlichen Patienten zu entnehmen, jeweils im Verlauf des Beobachtungszeitraumes.

Die im Atemgas detektierten Konzentrationen der volatilen Substanzen Isopren, Aceton und Pentan wiesen zu keinem der vier Messzeitpunkte einen statistisch signifikanten Unterschied im Vergleich zwischen weiblichen und männlichen Patienten auf ($p_I = 0,086$; $p_A = 0,285$; $p_P = 0,847$, Tab. 6).

Isopren in ppbv	weiblich n = 13	männlich n = 17
1	56,4 (45,6; 97,2)	99,3 (44,9; 132,7)
2	46,5 (33,3; 83,2)	86,0 (50,0; 107,6)
3	65,4 (38,0; 88,8)	96,4 (70,8; 121,6)
4	85,7 (54,9; 121,7)	135,7 (68,4; 199,9)
Aceton in ppbv	weiblich n = 13	männlich n = 17
1	752,7 (445,4; 931,1)	891,2 (512,7; 1262,1)
2	440,2 (328,3; 1008,9)	623,5 (406,3; 903,9)
3	434,7 (295,3; 864,3)	544,1 (321,5; 981,0)
4	453,5 (289,3; 841,7)	407,6 (262,7; 937,4)
Pentan in ppbv	weiblich n = 13	männlich n = 17
1	0,9 (0,4; 2,1)	0,8 (0,1; 2,6)
2	1,3 (0,8; 2,3)	1,3 (0,7; 2,5)
3	1,4 (0,6; 2,0)	1,2 (0,4; 2,6)
4	0,8 (0,5; 2,1)	0,8 (0,3; 1,7)

Tab. 6: VOC-Konzentrationen in ppbv im Verlauf einer Dialysebehandlung (Messzeitpunkte 1-4); im Vergleich zwischen weiblichen und männlichen Patienten; [Median (25-Perzentil; 75-Perzentil)]



3.5 Altersabhängigkeit der VOC-Atemgaskonzentrationen

Die im Atemgas detektierten Konzentrationen von Isopren zeigten eine statistisch signifikante negative Korrelation zum Alter der Patienten ($r = -0,389$ bei $p = 0,034$). Ebenso existierte für die alveolaren Benzolkonzentrationen eine statistisch signifikante negative Korrelation zum Alter der Patienten ($r = -0,457$ bei $p = 0,011$).

3.6 Vergleich von VOC-Atemgaskonzentrationen zwischen Patienten mit einem BMI ≤ 25 kg/m² und Patienten mit einem BMI > 25 kg/m²

Nach Einteilung des Patientenkollektivs in Abhängigkeit des Body-Mass-Index in eine Patientengruppe mit einem BMI ≤ 25 kg/m² und eine Patientengruppe mit einem BMI > 25 kg/m² ließ sich vor Beginn der Dialyse bezüglich der alveolaren Atemgaskonzentration von Aceton ein statistisch signifikanter Unterschied feststellen ($p = 0,028$) (siehe Tab. 7).

Substanz	BMI ≤ 25 kg/m ² (n = 11)	BMI > 25 kg/m ² (n = 19)	p
Isopren	70,3 (55,1; 221,3)	89,3 (43,2; 112,9)	0,699
Aceton	993,1 (705,2; 3818,8)	655,8 (425,2; 968,3)	0,028
Pentan	0,8 (0; 3,0)	0,9 (0,5; 2,1)	1

Tab. 7: VOC-Konzentrationen in ppbv vor Beginn der Dialysebehandlung; im Vergleich zwischen Patienten mit einem BMI ≤ 25 kg/m² und BMI > 25 kg/m²; [Median (25-Perzentil; 75-Perzentil)]; p aus Mann-Whitney Rank Sum Test; statistische Signifikanz bei $p < 0,05$

Die bei den Patienten erhobenen BMI zeigten eine statistisch signifikante negative Korrelation zu den im Atemgas detektierten Acetonkonzentrationen ($r = -0,529$ bei $p = 0,00281$). Die Isopren- und Pentankonzentrationen im Atemgas wiesen keinen signifikanten Unterschied im Vergleich der nach dem BMI klassifizierten Patientengruppen auf ($p_I = 0,699$; $p_P = 1,00$).



3.7 Medikamenteneinnahme und VOC-Konzentrationen im Atemgas

3.7.1 Vergleich von VOC-Atemgaskonzentrationen zwischen Patienten mit und Patienten ohne medikamentöse Statin-Therapie

Die im Atemgas detektierten Konzentrationen der volatilen Substanzen Isopren, Aceton und Pentan wiesen keinen statistisch signifikanten Unterschied im Vergleich der Patienten mit und denen ohne regelmäßige orale Einnahme eines Statins auf ($p_I = 0,845$; $p_A = 0,556$; $p_P = 0,863$) (siehe Tab. 8).

3.7.2 Vergleich von VOC-Atemgaskonzentrationen zwischen Patienten mit und ohne medikamentöse ACE-Hemmer-Therapie

Die im Atemgas detektierten Konzentrationen der volatilen Substanzen Isopren, Aceton und Pentan wiesen keinen statistisch signifikanten Unterschied im Vergleich der Patienten mit und denen ohne regelmäßige orale Einnahme eines ACE-Hemmers auf ($p_I = 1,00$; $p_A = 0,431$; $p_P = 0,182$) (siehe Tab. 8).

Substanz	Statin (n = 7)	kein Statin (n = 23)	p
Isopren	92,1 (78,8; 99,7)	68,8 (45,6; 122,3)	0,845
Aceton	1014,8 (576,7; 1102,6)	686,8 (466,2; 1136,9)	0,556
Pentan	0,9 (0,4; 2,1)	0,8 (0,3; 2,4)	0,863
Substanz	ACE-Hemmer	kein ACE-Hemmer	p
Isopren	82,6 (54,0; 104,3)	81,9 (45,6; 164,9)	1
Aceton	850,1 (622,7; 1170,7)	587,4 (466,2; 986,9)	0,431
Pentan	1,0 (1,1; 0,3)	1,7 (1,4; 0,4)	0,182

Tab. 8: VOC-Konzentrationen in ppbv vor Beginn der Dialysebehandlung; im Vergleich zwischen Patienten mit und ohne Statin- bzw. ACE-Hemmer-Dauertherapie
[Median (25-Perzentil; 75-Perzentil)]; p aus Mann-Whitney Rank Sum Test; statistische Signifikanz bei $p < 0,05$



3.8 Hämolyseparameter und VOCs im zeitlichen Verlauf einer Dialysebehandlung

3.8.1 Konzentrationsänderungen von freiem Hämoglobin im Serum

Bei der laborchemischen Untersuchung der venösen Blutproben auf freies Hämoglobin war ein Referenzbereich mit fHb < 0,006 mmol/l festgelegt. In den Blutproben, die bereits vor Beginn der Dialysebehandlung gewonnen wurden, ließ sich bei drei der untersuchten Patienten ein erhöhtes fHb mit maximal 0,015 mmol/l (PatID 4) nachweisen. Die restlichen Patienten wiesen vor Dialyse ein normwertiges fHb auf. Im Anschluss an die durchgeführte Dialysebehandlung zeigte sich in elf Fällen ein diskreter Anstieg des fHb, wobei jedoch lediglich bei fünf dieser Patienten über den Referenzbereich erhöhte Werte für das fHb detektierbar waren (maximal fHb = 0,036 mmol/l bei PatID 4). Es existierte kein signifikanter Unterschied der Messwerte des fHb im Vergleich der Messzeitpunkte 1 und 4 ($p = 0,161$) (siehe Tab. 9).

	vor Dialyse	nach Dialyse	p
fHb (mmol/l)	0,001 (0,001; 0,003)	0,001 (0; 0,001)	0,161
LDH (U/l)	169 (151; 238)	201,5 (164; 260)	0,09
LDH normiert; c_x / c_1	1	1,113 (0,989; 1,214)	0,005
Harnstoff (mmol/l)	19,2 (15,3; 21,6)	5,9 (4,1; 7,1)	< 0,001
Kreatinin ($\mu\text{mol/l}$)	666 (560; 843,5)	284 (218; 342,5)	< 0,001

Tab. 9: Im Serum bestimmte Parameter vor und nach einer Dialysebehandlung [Median (25-Perzentil; 75-Perzentil)]; $n = 30$; p aus Mann-Whitney Rank Sum Test; statistische Signifikanz bei $p < 0,05$

fHB - freies Hämoglobin

LDH - Laktatdehydrogenase

Statistisch signifikante Korrelationen zwischen den Serumkonzentrationen des fHb und den alveolaren Atemgaskonzentrationen von Isopren, Aceton und Pentan bestanden nicht.



3.8.2 Konzentrationsänderungen von VOCs und LDH-Aktivität während Dialyse

Tabelle 9 bildet neben den anderen konventionellen Laborparametern einen signifikanten Anstieg der Serum-LDH-Aktivität nach durchgeführter Dialysebehandlung ab.

Die Änderungen der Isoprenkonzentrationen von Messzeitpunkt 1 zu 4 zeigten tendenziell ein ähnliches Profil wie die sich im zeitlichen Verlauf ändernden Serumlevel der LDH-Aktivität, jedoch ohne statistisch signifikante Korrelation ($p = 0,428$ und $r = -0,149$).

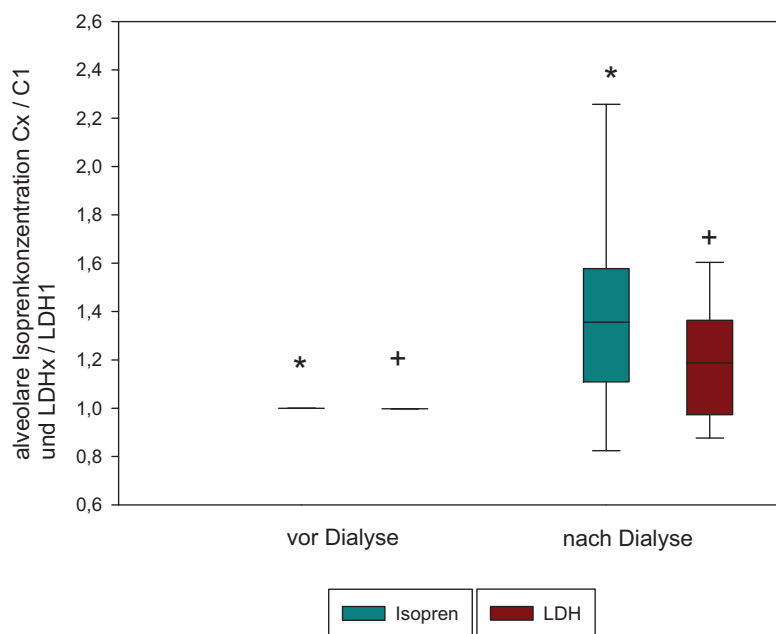


Abb. 12: Isoprenkonzentration im Atemgas und Serumaktivitäten der LDH vor und nach Dialysebehandlung, normiert auf den Messwert vor Dialysebeginn; $n = 30$; Median, 25- und 75-Perzentil
*, + statistisch signifikante Unterschiede ($p < 0,05$)
LDH - Laktatdehydrogenase



3.9 Retentionsparameter und VOCs im Atemgas im zeitlichen Verlauf einer Dialysebehandlung

Es existierte keine statistisch signifikante Korrelation zwischen den im Serum gemessenen Parametern Harnstoff und Kreatinin und den Isoprenkonzentrationen im Atemgas ($p = 0,497$ und $r = 0,128$ bzw. $p = 0,650$ und $r = 0,0857$).

Für die anderen untersuchten Atemgaskonzentrationen von Pentan und Aceton ließen sich ebenfalls keine statistisch signifikanten Korrelationen zwischen den im Serum gemessenen Nierenretentionsparametern und den VOC-Konzentrationen im Atemgas belegen.

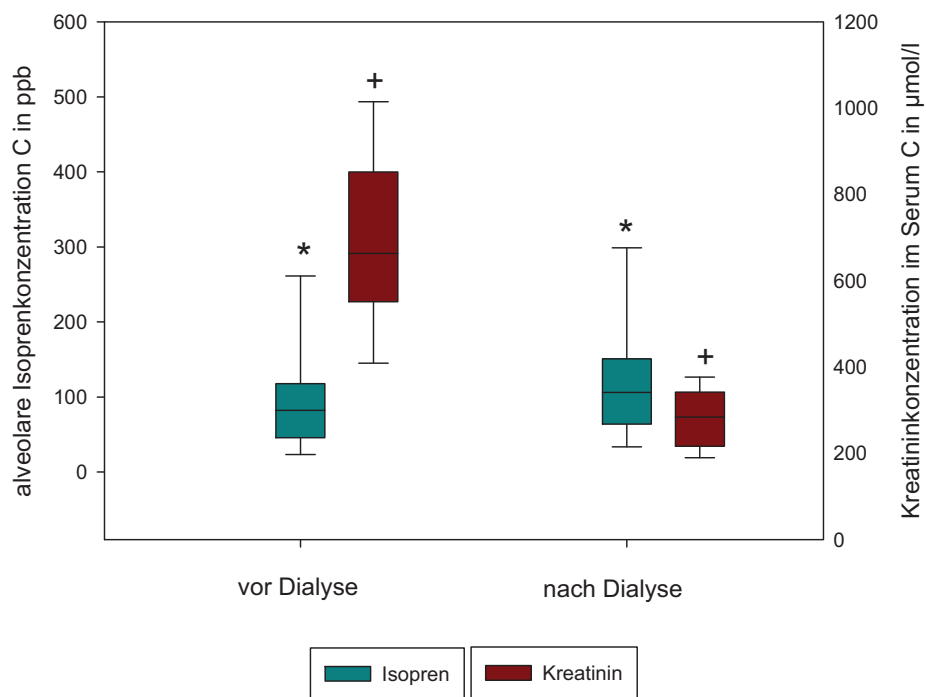
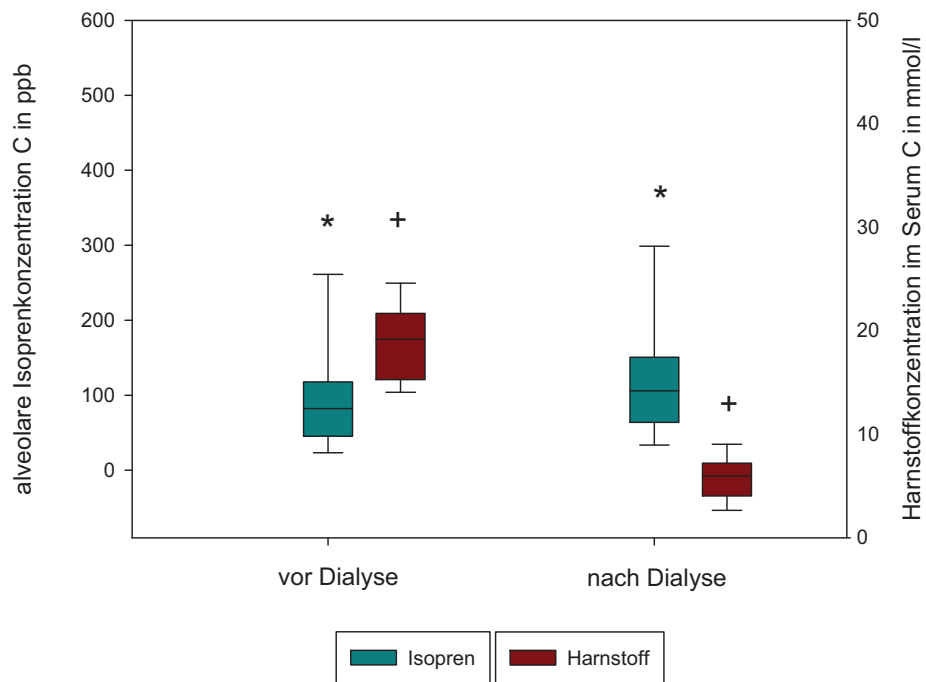


Abb. 13 a+b: Isoprenkonzentrationen im Atemgas in ppbv und Harnstoffspiegel im Serum in mmol/l bzw. Kreatininspiegel im Serum in µmol/l vor und nach Dialysebehandlung; n = 30; Median, 25- und 75-Perzentil

*, + statistisch signifikante Unterschiede ($p < 0,05$)



3.10 VOC-Konzentrationen in der Umgebungsluft

Abbildung 14 sowie Tabelle 10 stellen Quotienten dar, die sich aus den VOC-Konzentrationen der Raumluft sowie aus den alveolaren Atemgaskonzentrationen der untersuchten VOCs errechnet haben. Die VOC-spezifischen Quotienten berechneten sich nach der Formel $[(C_{\text{exp.1}} - C_{\text{insp.1}}) / C_{\text{exp.1}}]$.

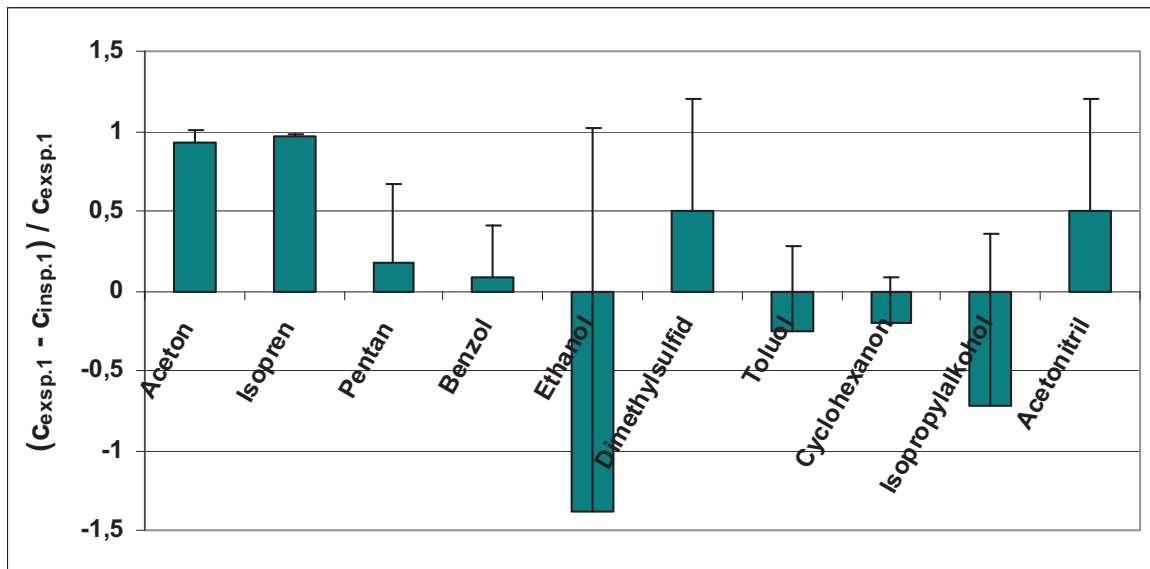


Abb. 14: Differenz der expiratorischen und der inspiratorischen Konzentration einzelner VOCs, normiert auf die alveolare expiratorische Atemgaskonzentration, zum Messzeitpunkt 1.

$[(C_{\text{exp.1}} - C_{\text{insp.1}}) / C_{\text{exp.1}}]$; Mittelwerte und Standardabweichung

Substanz	$(C_{\text{exp}} - C_{\text{insp}}) / C_{\text{exp}}$
Aceton	0,93 (0,08)
Isopren	0,97 (0,01)
Pentan	0,17 (0,51)
Benzol	0,08 (0,33)
Ethanol	-1,38 (2,40)
Dimethylsulfid	0,5 (0,71)
Toluol	-0,26 (0,53)
Cyclohexanon	-0,20 (0,29)
Isopropylalkohol	-0,72 (1,08)
Acetonitril	0,5 (0,71)

Tab. 10: Differenz von inspiratorischer und expiratorischer VOC-Konzentration dividiert durch die expiratorische VOC-Konzentration [Mittelwert (Standardabweichung)]; n = 30



4 Diskussion

Patienten unter Hämodialyse zeigen charakteristische Exhalationsprofile volatiler organischer Substanzen, die sich auf (patho-)physiologische Vorgänge im Organismus der Patienten, wie z. B. Hämolyse oder oxidativen Stress, zurückführen lassen.

Patientenspezifische Charakteristika wie Alter und BMI hatten Einfluss auf die im Atemgas detektierten Konzentrationen von Isopren, Benzol und Aceton.

Eine Objektivierung der Effektivität einer Nierenersatztherapie mittels Bestimmung volatiler Atemgasmarker wie Isopren, Pentan oder Aceton konnte nicht zufriedenstellend erfolgen.

Bereits publizierte atemgasanalytische Untersuchungen an dialysepflichtigen Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz lieferten bisher nur wenig substanziale Ergebnisse. Die Aussagekraft dieser wenigen Studien blieb durch die geringe Probandenanzahl, die Anwendung differenter analytischer Methoden und der damit nur schwer zu vergleichenden Ergebnisse sowie durch die geringe Anzahl der untersuchten Substanzen in der Atemluft stark limitiert. Im Fokus der bisher publizierten Studien stand insbesondere 2-Methyl-1,3-Butadien, der als Isopren bekannte wichtige physiologische Bestandteil des menschlichen Atems. Auch in der vorliegenden Arbeit lag ein besonderes Augenmerk auf der Kinetik der Isoprenabatmung unter Hämodialyse.

Davies et al. konnten im Rahmen ihrer Studien im Atemgasgemisch der Patienten erhöhte Isoprenkonzentrationen im Vergleich zu gesunden Probanden nachweisen sowie in Korrespondenz zu den hier erhobenen Daten einen Anstieg des expiratorischen Isoprengehaltes nach durchgeführter Dialysebehandlung detektieren [49]. Die von Davies et al. postulierten Erkenntnisse werden durch Studienergebnisse von Trovarelli und Lirk unterstrichen. In diesen zeigte sich, dass nach einer Dialysebehandlung signifikant erhöhte Isoprenkonzentrationen im Atemgas gegenüber den Konzentrationen vor der Behandlungseinheit nachweisbar sind [50, 51].



Capodicasa et al. untersuchten zudem terminal niereninsuffiziente Patienten, die ambulant mittels Bauchfelldialyse therapiert werden, und konnten im Gegensatz zu vorherigen Studien keine erhöhten Isoprenkonzentrationen im Vergleich zu Gesunden im Atemgasgemisch nachweisen, ebenso wenig wie einen Konzentrationsanstieg im Verlauf einer Behandlungseinheit. In Anbetracht dessen liegt die Vermutung nahe, dass die endogene Mehrproduktion von Isopren in kausalem Zusammenhang mit dem bei der Peritonealdialyse entfallenden extrakorporalen Blutkreislauf steht [52].

Diese Hypothese wurde von Capodicasa et al. in einer Studie von 2007 weiter verfolgt. Hierbei konnte aufgezeigt werden, dass die Abatmung von Isopren nicht durch Ultrafiltration oder hämodynamische Veränderungen unter Dialyse beeinflusst wird, sondern tatsächlich vielmehr in Zusammenhang mit dem extrakorporalen Blutkreislauf zu bringen ist [53].

Aufgrund der im Vergleich zur vorliegenden Arbeit größer gewählten Messzeitabstände in den Studien von Capodicasa, Davies und Trovarelli wurden Isoprenkonzentrationen und deren Änderungen innerhalb der ersten beiden Stunden der Dialysebehandlung nicht untersucht. Demnach muss postuliert werden, dass der in den vorliegenden Untersuchungen gezeigte initiale Konzentrationsabfall des Isoprens bisher unentdeckt blieb. Der nach Abschluss der Dialyse aufgezeigte Konzentrationsanstieg des Isoprens bestätigt die zuvor genannten Studienergebnisse der italienischen und britischen Arbeitsgruppen.

Das Profil, mit dem sich die alveolaren Isoprenkonzentrationsänderungen über den gesamten zeitlichen Verlauf der Dialyse abbilden, scheint in Ergänzung zu den Postulierungen der bereits zitierten Studien durch weitere Hypothesen belegbar.

Zum einen muss davon ausgegangen werden, dass die Abatmung des Isoprens in Abhängigkeit des Herzzeitvolumens erfolgt. Bereits Miekisch et al. diskutierten und belegten den Zusammenhang zwischen Isoprenkonzentrationen im Atemgas und dem Ausmaß der momentanen kardialen Leistung [54]. Mit dieser These unterstreichen sie die Daten, die von Karl et al. bereits 2001 veröffentlicht wurden.



Diese zeigten einen Anstieg der Isoprenkonzentrationen im Atemgas nur wenige Sekunden nach Beginn körperlicher Anstrengung und begründeten diesen durch die rasche Erhöhung des Herzzeitvolumens zu Beginn der sportlichen Betätigung [31]. Eine HZV-abhängige Exhalation von Isopren könnte demnach für die in der vorliegenden Arbeit gemessenen Konzentrationsänderungen des Isoprens im Verlauf der Dialyse mitverantwortlich sein.

Kreislaufdysregulationen mit zum Teil symptomatischen Hypotensionen gehören mit einer Häufigkeit von bis zu 36 % zu den häufigsten Nebenwirkungen der Nierenersatztherapie [17, 55]. Auch in der vorliegenden Untersuchung bildete sich dieses Phänomen in der überwiegenden Zahl der Fälle in Form eines signifikanten Blutdruckabfalls beziehungsweise einer Reduktion des Druck-Frequenz-Produktes nach Beginn der Dialyse ab. In Ergänzung hierzu zeigte sich außerdem eine tendenzielle Ähnlichkeit der Isoprenkonzentrationsänderungen in der Ausatemluft mit den Änderungen des Druck-Frequenz-Produktes. Sowohl der initiale Konzentrationsabfall des Isoprens als auch dessen Wiederanstieg im Verlauf scheint durch die Messwerte des korrespondierenden DFP erklärbar. Diese Ergebnisse lassen den Schluss zu, dass die Exhalation des Isoprens einer Abhängigkeit des HZV unterliegt und unterstreichen die Theorien vorheriger Publikationen.

Der Abatmung von Isopren wird von einigen anderen Arbeitsgruppen eine zirkadiane Rhythmik unterstellt [35, 36]. Zwei Konzentrationsmaxima für Isopren innerhalb von 24 h wurden in diesen Untersuchungen reproduzierbar gegen 6 und 18 Uhr beobachtet, wobei die niedrigsten Isoprenkonzentrationen insbesondere während der Schlafphasen gemessen wurden.

Inwiefern der von der Tageszeit abhängige Isoprengehalt im menschlichen Atem auf einer tatsächlichen zirkadianen Rhythmik der endogenen Isoprenproduktion beruht oder lediglich auf die sich über den Tag ändernden HZV-Level, auch in Abhängigkeit des physischen Aktivitätsgrades, bleibt abschließend nicht beurteilbar.



In Zusammenschau der Untersuchungsergebnisse der vorliegenden Studie mit denen der Arbeitsgruppen um Miekisch et al. und Karl et al. ist ein Zusammenhang zwischen den Konzentrationsänderungen des Isoprens unter Nierenersatztherapie und den Veränderungen des HZV wahrscheinlicher als die der Isoprenexhalation unterstellten zirkadianen Rhythmik.

Neben Isopren gehört Aceton zu den am umfassendsten untersuchten VOCs. Gemeinsam mit β -Hydroxybutyrat und Acetoacetat zählt Aceton zu der Gruppe der Ketonkörper und wird insbesondere bei Stoffwechsellentgleisungen im Rahmen eines Diabetes mellitus oder bei länger andauerndem Fasten vermehrt über die Lungen exhaliert. Die Exhalation von Aceton unter Hämodialyse zeigte eine Kinetik mit konsekutivem Konzentrationsabfall im Atemgas. Aufgrund der hydrophilen chemischen Eigenschaften des Acetons scheint eine Elimination der Substanz im Rahmen der Dialyse ein plausibler Mechanismus hierfür.

Atemgasanalytische Untersuchungen an terminal niereninsuffizienten Patienten unter Nierenersatztherapie beschränkten sich bisher auf die Detektion von Isopren und Ethan, sodass es künftig weiterer Studien bedarf, welche die Detektion von Aceton mit einschließen.

Aceton wird nachgewiesenermaßen bei Patienten mit schlecht eingestelltem Diabetes mellitus vermehrt über die Lungen abgeatmet [56] und über den Urin ausgeschieden und ruft den für eine diabetische Stoffwechsellentgleisung typischen Foetor ex ore hervor. Die atemgasanalytische Untersuchung der Diabetespatienten im dialysepflichtigen Patientenkollektiv war daher von ganz besonderem Interesse. Im gesamten Versuchszeitraum konnten im Gruppenvergleich zwischen Patienten, die an Diabetes leiden, gegenüber nicht-diabetischen Dialysepatienten keine signifikant unterschiedlichen Acetonkonzentrationen im Atemgas bestimmt werden. Auffällig ist hingegen die im Gruppenvergleich unterschiedlich stark ausgeprägte Messwertstreuung. Die alveolaren Acetonkonzentrationen insulinpflichtiger Diabetiker weisen eine geringe Varianz auf, wohingegen sich der Acetongehalt in der Ausatemluft von nicht-diabetischen Patienten mit einer deutlichen Schwankungsbreite der Messwerte abbildet.



Während Aceton im Atemgas in erhöhten Konzentrationen bei gesteigerter Lipolyse messbar ist [48], besteht ein bekannter biochemischer Mechanismus des Insulins in der Fähigkeit zur Hemmung der Lipolyse. Als Folge der Lipolyseinhibition durch Insulin unterliegen die Konzentrationen des Atemgasacetons der Diabetiker einer geringeren Varianz. Eine Erklärung hierfür könnte sein, dass die interindividuellen Unterschiede in der zum Messzeitpunkt momentan vorherrschenden Stoffwechsellage, ablesbar durch die aktuelle Acetonkonzentration im Atemgas, durch die chronische Insulintherapie maskiert werden. In Bezug auf die nicht-diabetischen Patienten scheinen die Messwertstreuungen die physiologischen, interindividuellen Unterschiede der aktuellen Stoffwechsellage abzubilden.

Wie bereits angeführt, scheint das Gleichgewicht des Organismus zwischen peroxidativer Aktivität und antioxidativen Schutzmechanismen bei Nierenersatztherapieverfahren gestört zu sein. Dieser Dysbalance liegen Stoffwechsellagevorgänge zugrunde, die mithilfe der Atemgasanalytik durch Detektion von VOCs objektiviert werden können. Dabei ist insbesondere Pentan hervorzuheben, welches in zahlreichen Studien als etablierter Biomarker für oxidativen Stress herausgestellt wurde [25, 26, 54, 57, 58].

Diesbezüglich erbrachten Investigationen von Miekisch et al. den Nachweis erhöhter Pentankonzentrationen im Atemgas bei Patienten, die durch inflammatorische Prozesse bei SIRS, Sepsis oder ARDS vermehrt oxidativem Stress ausgesetzt sind [48, 59].

Die Bildung von Pentan erfolgt im Rahmen von durch ROS (reactive oxygen species) initiierten Lipidperoxidationsvorgängen an der Zellmembran. Aus Omega-3- und Omega-6-Fettsäuren werden auf diese Weise nicht nur Pentan und Ethan gebildet, sondern auch das als Serummarker für oxidativen Stress bekannte Malondialdehyd [25].

Die Pentankonzentrationen im Atemgas korrelieren mit den Serumspiegeln des MDA, der TBARS (thiobarbituric acid reactive substances) und des Glutathions (GSH), wie Arbeiten von Aghdassi et al. belegen konnten [60].



In Bezug auf die Sensitivität konnte die Arbeitsgruppe um Miekisch und Schubert eine Überlegenheit der Atemgasmarker gegenüber den Serummarkern wie MDA herausstellen [34, 48].

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigten im zeitlichen Verlauf einer Dialysebehandlung einen signifikanten Konzentrationsanstieg von Pentan im Atemgas in den ersten beiden Stunden nach Beginn der Nierenersatztherapie. Anschließend zeichnet sich ein Abfall der Pentankonzentrationen auf das Niveau vor Dialysebeginn ab.

Es muss demnach postuliert werden, dass oxidativer Stress besonders innerhalb der ersten Stunden der Dialysebehandlung auf den Organismus einwirkt. Die Balance zwischen antioxidativen Schutzmechanismen und dem Einfluss freier Radikale scheint zu diesem Zeitpunkt am stärksten gestört zu sein.

Ein weiterer den oxidativen Stress begünstigender Faktor scheint die insbesondere zu Beginn der Dialysebehandlung auftretende Kreislaufdepression zu sein. Die plötzlich einsetzende Ultrafiltration bedingt eine Reduktion des Blutvolumens mit konsekutiv erniedrigter kardialer Vorlast und begünstigt Blutdruckabfälle und Kreislaufinstabilitäten. Diese Umstände bewirken im menschlichen Organismus Stressreaktionen, die sich offensichtlich in dem signifikanten Anstieg der alveolaren Pentankonzentrationen widerspiegeln.

Viele Studien demonstrierten bereits, dass Hämodialysepatienten per se eine reduzierte antioxidative Kapazität bei vermehrt anfallendem oxidativen Stress aufweisen [59]. Im Vergleich zu gesunden Probanden konnten bei dialysepflichtigen Nierenkranken in Arbeiten von Martin-Mateo et al. niedrigere Aktivitätslevel antioxidativer Enzymsysteme [61], wie beispielsweise Glutathion und Glutathionperoxidase, bei erhöhten Malondialdehydspiegeln [62] im Serum evaluiert werden.

Des Weiteren kommt es unter der Nierenersatztherapie zur Elimination dialysabler Antioxidantien, wie z. B. Ascorbinsäure sowie zur Rückfiltration von körpereigenen Endotoxinen [15, 20, 63], wodurch die bestehende Dysbalance im Rahmen oxidativen Stresses verstärkt werden könnte.



Die vorliegenden Ergebnisse illustrieren neben dem Pentankonzentrationsanstieg am zweiten Messzeitpunkt eine starke Varianz der Messwertstreuung.

Insbesondere eine Stunde nach Dialysestart sind die interindividuellen Unterschiede bezüglich des Pentankonzentrationsanstieges bemerkenswert. Möglicherweise bildet sich hierbei die im Patientenkollektiv sehr unterschiedlich ausgeprägte Empfindlichkeit gegenüber oxidativem Stress und dessen Auswirkungen ab.

Im Verlauf einer Dialysesitzung zeigt sich nach maximalen Pentankonzentrationen am zweiten Messzeitpunkt eine statistisch signifikante Regredienz der alveolaren Konzentrationen des Pentans. Diese kann als möglicher Ausdruck einer aus der Hämodialyse resultierenden Abnahme der Bildung freier Radikale gewertet werden.

Durch Elimination von Urämietoxinen sowie durch Ausgleich des Wasser-, Elektrolyt- und Säurebasenhaushaltes wird gegen Ende der Dialysesitzung das Ungleichgewicht zwischen oxidativer und antioxidativer Aktivität ausgeglichen. Es resultiert eine Abschwächung oxidativen Stresses und somit eine Rückkehr der alveolaren Pentankonzentrationen zum Ausgangsniveau der Messwerte.

Zusammenfassend lässt sich anhand der aufgezeigten Ergebnisse postulieren, dass der Organismus eines terminal Niereninsuffizienten durch regelmäßige Dialyse vermehrt anfallenden freien Radikalen ausgesetzt ist. Das Ausmaß des oxidativen Stresses ist durch alveolare Pentankonzentrationsbestimmungen im Atemgas detektierbar.

Ergänzend wurden die ermittelten absoluten Pentankonzentrationen in der alveolaren Atemgasprobe im Verlauf der Dialyse ebenfalls im Gruppenvergleich zwischen Diabetikern und Dialysepatienten ohne Diabetes mellitus untersucht. Obschon die Pentankonzentrationen im Gruppenvergleich zu den jeweiligen Messzeitpunkten keine statistisch signifikanten Unterschiede aufweisen, lassen sich anhand der erhobenen Messwerte interessante Effekte skizzieren.



Im Verlauf der Dialysebehandlung erhöhen sich die Atemgaskonzentrationen des Pentans in beiden Gruppen mit statistischer Signifikanz, jedoch mit dem Unterschied, dass Maximalwerte der Pentankonzentration bei den diabetischen Patienten bereits eine Stunde nach Beginn der Behandlung erreicht werden, wohingegen maximale Pentankonzentrationen bei den Patienten ohne Diabetes mellitus erst am dritten Messzeitpunkt, also nach zweistündiger Dialyse, detektierbar sind.

Die erhobenen Daten lassen den Schluss zu, dass bei Diabetikern unter Hämodialyse die Auswirkungen oxidativen Stresses früher objektivierbar werden als bei Patienten ohne Diabetes mellitus. Die Ursache dafür könnte eine bei diabetischen Dialysepatienten bestehende erhöhte Sensibilität gegenüber (per-) oxidativer Aktivität sein, aus der sich eine raschere Imbalance zu Gunsten der Bildung freier Radikale ergibt. Dieser Hypothese könnte ebenfalls die Annahme zugrunde liegen, dass sich bei diabetischen Patienten im Rahmen einer Nierenersatztherapie frühzeitiger eine Erschöpfung antioxidativer Schutzmechanismen entwickelt als bei nicht diabetischen Dialysepatienten.

Im Rahmen atemgasanalytischer Untersuchungen einzelner VOCs wurde in der vorliegenden Arbeit ein weiteres Augenmerk auf die alveolaren Konzentrationsänderungen des Ethanol im Verlauf einer Dialysesitzung gelegt.

Ethanol ist in medizinisch-klinischer Umgebung, wie diese auch im ambulanten Dialysezentrum vorzufinden ist, eine vielfach verwendete Substanz. Als Zusatz von Desinfektions-, Reinigungs- oder Arzneimitteln gilt Ethanol als volatile organische Substanz sicheren exogenen Ursprungs, die nach Inhalation aus der Umgebungsluft in der Alveolarphase der Ausatemluft in sehr hohen Konzentrationen nachweisbar ist. Im zeitlichen Verlauf der Dialysesitzung werden zwar signifikante Ethanolkonzentrationsänderungen sichtbar, aber auch große Messwertstreuungen.

Die starke Variabilität der Messwerte lässt auf eine sich stark ändernde Zusammensetzung der Umgebungsluft schließen. Die quantitative Bestimmung der Ethanolkonzentrationen im Atemgasgemisch kann demnach keine validen Informationen über endogene Stoffwechselprozesse des Organismus liefern.



Im Rahmen der Atemgasanalytik ist, wie eingangs erwähnt, die chemische Analyse von Raumlufthproben von großer Bedeutung zur Unterscheidung von VOCs endogenen Ursprungs als potentielle volatile Biomarker und exogenen Substanzen als Kontamination der Ausatemluft durch die Umgebungsluft [64]. Lediglich die Substanzen endogener Herkunft, die anhand ihrer Konzentration in der alveolaren Atemgasprobe ihre Blutkonzentration widerspiegeln, können als Biomarker für Gesundheits- oder Krankheitszustände eines Menschen dienen [65]. Die Einbeziehung der Messwerte der Raumlufthproben in die Ergebnisinterpretation beeinflusst die Aussagekraft der Messdaten erheblich [30, 64]. Bisher zeichnet sich jedoch noch kein einheitlicher Konsensus über die Art und Weise der Einbeziehung der inspiratorisch gemessenen Konzentrationen der VOCs ab. Einfache mathematische Strategien, wie z. B. die Subtraktion oder die Normierung der VOC-Konzentrationen, werden der komplexen Pathophysiologie des Lungenstoffwechsels inklusive potentieller Veränderungen des Ventilations- / Perfusionsverhältnisses nicht gerecht.

Bei der vorliegenden Studie wurden diesbezüglich zusätzliche analytische Untersuchungen unter Einbeziehung von Raumlufth- bzw. Inspirationsproben durchgeführt [66, 67]. Den erhobenen Daten zufolge können Isopren und Aceton der Gruppe der endogenen VOCs zugeordnet werden. Isopropylalkohol und Ethanol lassen sich auf diese Weise eindeutig als exogene VOCs identifizieren. Wie für exogene VOCs typisch wurden sehr große Standardabweichungen der Messwerte als Zeichen des stets stark variierenden Gehaltes in der Raumlufth ermittelt.

Zusammenfassend unterstreichen die vorliegenden Ergebnisse in Korrespondenz mit den wenigen dazu veröffentlichten Publikationen [64, 67] die Wichtigkeit und Notwendigkeit der Inspirationsprobenanalytik für die Differenzierung der evaluierten VOCs nach ihrer Herkunft. Lediglich die analytische Aufarbeitung von expiratorischen und inspiratorischen Proben erlaubt eine differenzierte und eindeutige Ergebnisinterpretation.



Ein weiterer wichtiger Faktor auf dem Weg zur validen Datenerhebung und Ergebnisinterpretation ist neben der Einbeziehung der Raumluftproben die Anwendung einer geeigneten Probennahme. Die Art der Gewinnung einer Atemgasprobe wurde bereits in zahlreichen wissenschaftlichen Publikationen kontrovers diskutiert [32, 65, 68].

Ziel ist es, eine Methode zu etablieren, die sich sowohl durch gute Reproduzierbarkeit und Standardisierbarkeit als auch durch eine Nachweisgrenze im Spurenbereich auszeichnet. Die CO₂-kontrollierte Abnahme der Atemgasproben stellt diesbezüglich die Methode der Wahl dar [65, 67, 69]. CO₂ wird dabei als Marker genutzt, um den Lungenstoffwechsel der volatilen Substanzen nachvollziehen und deren Abatmung mit der Ausatemluft sichtbar machen zu können. Hauptstrommessungen des CO₂-Partialdruckes mittels Kapnographie ermöglichen die Darstellung der verschiedenen Phasen des Atemzyklus im zeitlichen Verlauf. Nach erfolgter Inspiration mit anschließender gemischt-expiratorischer Phase (inklusive Totraumvolumen) wird die Alveolarphase im Kapnogramm eindeutig durch ein sich einstellendes Plateau erkennbar. Die Probengewinnung kann standardisiert und reproduzierbar exakt während dieser entscheidenden Phase unter visueller Kontrolle des Kapnogramms erfolgen. Ausschließlich die in dieser Zeitspanne durchgeführte Probennahme garantiert die Messung der VOCs im relevanten Konzentrationsbereich. Die bei dieser alveolaren Probennahme detektierten VOC-Konzentrationen im Atemgas ermöglichen die Reflektion der entsprechenden Blutkonzentrationen. Im Vergleich zur gemischt-expiratorischen Probennahme werden bei der streng alveolaren Probennahme Verunreinigungen der Atemgasproben durch das Totraumvolumen nahezu vollständig vermieden. Folglich lassen sich endogene VOCs in zwei- bis dreifach höheren Konzentrationen nachweisen. Es ergibt sich somit eine Steigerung der Nachweismöglichkeit von endogenen Biomarkern und eine starke Reduktion der Messwertstreuung [65, 67, 69].

Anhand der zuvor geschilderten Datenverarbeitung zur Unterscheidung exogener von endogenen VOCs lässt sich Benzol nicht eindeutig klassifizieren. Möglicherweise existiert diesbezüglich ein kausaler Zusammenhang mit der Lipophilie des Benzols [70].



Benzol musste als klassischer Vertreter aus der Gruppe der aromatischen Kohlenwasserstoffe von der industriellen Verwendung als Lösungsmittel aufgrund seiner Kanzerogenität [71] trotz hervorragender lipophiler Eigenschaften ausgeschlossen und durch Toluol und Xylol ersetzt werden.

Die lipophilen Eigenschaften des Benzols führen nach Inhalation und Übertritt in die Blutphase zur Kumulation in fetthaltigen Geweben [72] und sukzessiver Umverteilung. Die expiratorischen Atemgaskonzentrationen von Benzol könnten demnach aus der Summe von inhalativer Aufnahme aus der Umwelt in den Organismus und Elimination über die Lungen nach Rückdiffusion aus fettreichen Geweben resultieren. Dadurch scheint sich ein Molekülprofil zu ergeben, das sich einer eindeutigen Zuordnung zu endogenen oder exogenen VOCs entzieht. Dem zeitlichen Verlauf einer Dialysebehandlungseinheit ist ein konsistenter Abfall der Atemgaskonzentrationen von Benzol auf ca. 79 % der initialen Messwerte zu entnehmen. Die detektierte Reduktion der alveolaren Benzolkonzentration könnte auf die Hypothese eines sogenannten „Auswasch-Phänomens“ hindeuten.

In bereits publizierten Studien von Turner et al. sowie Kushch et al. wurde der Einfluss von patientenspezifischen Charakteristika auf die Exhalation von VOCs untersucht. Die Autoren konnten diesbezüglich keinen signifikanten Einfluss von Alter und Geschlecht auf die Konzentrationen von Isopren, Pentan und Aceton in Atemgasproben finden [73, 74]. Diese Daten lassen sich durch die in vorliegender Arbeit erhobenen Ergebnisse nicht einheitlich bestätigen. In Übereinstimmung mit Turner und Kushch zeigt sich, dass die VOC-Abatmung unabhängig vom Patientengeschlecht erfolgt. Es besteht jedoch eine signifikant negative Korrelation zwischen Alter und alveolarer Benzol- respektive Isoprenkonzentration. Die bereits diskutierte Abhängigkeit der Isoprenexhalation vom Herzzeitvolumen könnte diesbezüglich ein Erklärungsmodell darstellen. Mit zunehmendem Lebensalter steigt die Wahrscheinlichkeit für eine progrediente diastolische Dysfunktion [75] mit konsekutiver HZV-Reduktion.

Die im höheren Patientenalter vermindert detektierten Isoprenkonzentrationen im Atemgas könnten demnach auf die altersabhängige HZV-Reduktion zurückgeführt werden.



Die erhobenen Daten demonstrieren außerdem eine negative Korrelation zwischen dem BMI als weiteres patientenspezifisches Charakteristikum und der Acetonkonzentration in der Ausatemluft.

Da Acetonkonzentrationen im Atemgas in Zusammenhang mit dem Fettstoffwechsel des Organismus stehen und eine gesteigerte Lipolyse anzeigen können [25], kann postuliert werden, dass im Organismus von Patienten mit einem $\text{BMI} \leq 25 \text{ kg/m}^2$ im Vergleich zu Übergewichtigen der Prozess der Lipolyse in gesteigertem Maße abzulaufen scheint. Im Umkehrschluss lässt sich vermuten, dass bei übergewichtigen Patienten eine Inhibition lipolytischer Stoffwechselfvorgänge stattfindet.

HMG-CoA-Reduktase-Hemmer (Statine) sollen außer der positiven Beeinflussung von Fettstoffwechselstörungen zusätzlich antioxidative Nebeneffekte aufweisen. Studien von Yoon et al., die die Pathogenese der diabetischen Vaskulopathie zum Inhalt hatten, belegten diesbezüglich eine dosisabhängige Senkung der ROS-Bildung bei diabetischen Patienten unter Statin-Dauermedikation [76]. Im Gruppenvergleich lassen sich in der vorliegenden Arbeit jedoch keine statistisch signifikanten Unterschiede in der Exhalation von Isopren, Aceton oder Pentan zwischen den Patienten, die unter einer Therapie mit Statinen respektive ACE-Hemmern stehen und denen ohne eine solche Dauermedikation nachweisen. Im Falle einer verminderten oxidativen Radikalität unter diesen Medikamenten wären bei den medikamentös behandelten Patienten signifikant geringere alveolare Konzentrationen von Pentan, dem Biomarker für oxidativen Stress, zu erwarten gewesen.

Anhand der vorliegenden Ergebnisse wird deutlich, dass mittels der Bestimmung alveolarer VOC-Konzentrationen ein antioxidativer Effekt von Statinen oder ACE-Hemmern mit reduktiver Wirkung auf die Produktion freier Radikale nicht nachgewiesen werden kann.

Zur Evaluierung des Ausmaßes einer Hämolyse, die lange Zeit eine bedeutende Komplikation der Nierenersatztherapie darstellte, wurde der Serumspiegel der Laktatdehydrogenase bestimmt.



Erhöhte LDH-Aktivitätslevel finden sich im Allgemeinen in Phasen vermehrten Zellerfalls, wie beispielsweise bei Hämolyse, Tumorerkrankungen oder durch mechanische Schäden z. B. im Rahmen extrakorporaler Blutzirkulation durch Kontakt des Blutes mit Fremdkörperoberflächen [77-79]. Aufgrund der nicht zu unterschätzenden Unspezifität des LDH wurde die Konzentration des freien Hämoglobins im Serum als zusätzlicher Hämolysemarker herangezogen.

Die vorliegenden Ergebnisse bilden eine signifikante Erhöhung der LDH-Aktivität im Serum um 11,3 % bis zum Ende einer Dialysebehandlung ab und zeigen, dass diese LDH-Elevation mit einem signifikanten Konzentrationsanstieg des Isoprens im Atemgas um 35 % einhergeht. Eine während der Nierenersatztherapie induzierte Hämolyse wird sehr wahrscheinlich in kausalem Zusammenhang mit dieser LDH-Aktivitätssteigerung stehen, wie bereits in Publikationen von Thomas et al. postuliert [79]. In Anbetracht der korrespondierenden Änderungen des Isoprengehaltes im Atemgas und der LDH-Aktivität im Serum kann ein Zusammenhang zwischen der terminalen Isoprenkonzentrationssteigerung über die initialen Level hinaus mit einer unter Dialyse auftretenden Hämolyse angenommen werden.

In der vorliegenden Arbeit konnten Änderungen des fHb-Gehaltes im Serum unter Dialyse nur in marginalem Umfang verzeichnet werden. Dieses lässt auf eine nur minimal ausgeprägte Dialyse induzierte Hämolyse schließen. In-vitro-Versuche in Vorbereitung auf die vorliegende klinisch-experimentelle Patientenstudie zeigten bereits, dass durch die zur Verfügung stehenden modernen Dialysetechniken hämolytische Prozesse nahezu vollständig vermieden werden und als Komplikation extrakorporaler Nierenersatztherapieverfahren derzeit keine signifikante Relevanz zu haben scheinen. Um das Ausmaß von unter Dialyse stattfindenden hämolytischen Prozessen umfassend diskutieren zu können, sind weitere Studien notwendig. Bei diesen sollte auf die Bestimmung der Haptoglobinspiegel im Serum nicht verzichtet werden. Als Hämolysemarker ist die Sensitivität erniedrigter Haptoglobinspiegel im Serum der erhöhten LDH-Aktivität überlegen [80].



Die alveolare Konzentrationsbestimmung des Isoprens eignet sich den Ergebnissen zufolge, um hämolytische Prozesse im Rahmen einer Nierenersatztherapie bereits bei geringer Ausprägung anzuzeigen.

Neben den Hämolyseparametern LDH und fHb wurden die den Patienten entnommenen venösen Blutproben auf Nierenretentionsparameter untersucht. Zur Abschätzung der Effektivität einer Dialysebehandlung und teilweise zur Indikationsstellung einer Nierenersatztherapie werden üblicherweise die Retentionsparameter Kreatinin und Harnstoff herangezogen.

Um hierfür eine nichtinvasive alternative diagnostische Methode zu etablieren, wurden in diesem Studienansatz Atemgasproben der Dialysepatienten auf verschiedene VOCs und mögliche Korrelationen zu den konventionellen Serumparametern Kreatinin und Harnstoff untersucht. Als charakteristisch lassen sich bei den rekrutierten dialysepflichtigen Patienten ausschließlich über die Norm hinaus reichende Kreatinin- und Harnstoffspiegel im Serum als Zeichen der Nierenfunktionseinschränkung nachweisen. Erwartungsgemäß konnten nach Ende der Dialysebehandlung im Vergleich zu den Basiswerten signifikant gesenkte Kreatinin- und Harnstoffkonzentrationen bestimmt werden.

Es existiert nach Auswertung der erhobenen Messwerte jedoch keine statistisch signifikante Korrelation zwischen den im Serum gemessenen Retentionsparametern und den alveolaren Konzentrationen von Isopren, Aceton und Pentan.

In Zusammenschau der dargelegten Ergebnisse lässt sich die Effektivität einer Nierenersatztherapie momentan nicht zufriedenstellend über die Bestimmung volatiler Atemgasmarker wie Isopren, Pentan oder Aceton abschätzen.



5 Zusammenfassung

Anhand der vorliegenden Ergebnisse können charakteristische Exhalationsprofile für einzelne volatile organische Substanzen beschrieben werden, welche sich auf (patho-)physiologische Vorgänge im Organismus eines dialysepflichtigen Patienten zurückführen lassen.

Aufgrund der Korrespondenz von Isoprenabatmung und LDH-Serumaktivitäten kann postuliert werden, dass Isopren einen potentiellen Marker für hämolytische Prozesse unter Dialyse darstellt. Hämolyse tritt unter laufender Hämodialyse allerdings in nur sehr geringem Maße auf, sichtbar an nur minimaler, aber signifikanter LDH-Aktivitätssteigerung im Serum.

Der Abatmung des Isoprens muss nach vorliegenden Untersuchungsergebnissen außerdem eine Abhängigkeit vom Herzzeitvolumen unterstellt werden.

Als Atemgasmarker für oxidativen Stress zeigt Pentan eine durch Dialyse induzierte Vermehrung freier Radikale zu Lasten der antioxidativen Kapazität des Organismus an. Insbesondere innerhalb der ersten beiden Stunden der Dialysebehandlung ist der Patient peroxidativen Stoffwechselreaktionen ausgesetzt. Als potentielle Ursachen hierfür kommen Kreislaufinstabilitäten mit teilweise drastischen Blutdruckabfällen, der extrakorporale Blutkreislauf mit Kontakt des Blutes mit Fremdkörperoberflächen sowie eine daraus resultierende Komplementaktivierung und Hämolyse in Betracht. Anhand der detektierten alveolaren Pentankonzentrationen kann postuliert werden, dass insulinpflichtige Diabetiker unter Hämodialyse in geringerem Maße über Kompensationsmöglichkeiten bei auftretendem oxidativen Stress verfügen als Patienten ohne Diabetes mellitus.

Im zeitlichen Verlauf einer Dialysebehandlung ließ sich ein signifikanter Konzentrationsabfall des alveolaren Acetons beobachten. Die ausgeprägte Hydrophilie des Acetons begünstigt möglicherweise die Elimination der Substanz im Rahmen der Dialyse. Im Sinne eines Verdünnungseffektes zeigt sich dann die Regredienz des alveolaren Acetongehaltes im zeitlichen Verlauf der Messung.



Die Abatmung einiger der untersuchten VOCs hängt von patientenspezifischen Charakteristika ab. Das Patientenalter und der Body-Mass-Index des Patienten haben Einfluss auf die abgeatmeten Konzentrationen von Isopren, Benzol oder Aceton. Bei normgewichtigen Patienten war eine signifikant höhere Acetonkonzentration im Atemgas messbar als bei Patienten mit leichtem bis stärkerem Übergewicht. Da eine vermehrte Abatmung von Aceton mit einer vermehrten Lipolyse einhergeht, scheint möglicherweise eine Inhibition lipolytischer Prozesse im Organismus übergewichtiger Patienten stattzufinden.

Anhand der vorliegenden Ergebnisse kann die Effektivität einer Dialysebehandlungseinheit momentan nicht eindeutig über die atemgasanalytische Bestimmung von körpereigenen flüchtigen Substanzen wie Isopren, Pentan oder Aceton objektiviert werden.



6 Literaturverzeichnis

- [1] Kielstein JT, Boger RH, Bode-Boger SM, et al. Marked increase of asymmetric dimethylarginine in patients with incipient primary chronic renal disease. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13:170-176.
- [2] Kielstein JT, Boger RH, Bode-Boger SM, et al. Asymmetric dimethylarginine plasma concentrations differ in patients with end-stage renal disease: relationship to treatment method and atherosclerotic disease. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10:594-600.
- [3] Schmidt RJ, Domico J, Samsell LS, et al. Indices of activity of the nitric oxide system in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 1999; 34:228-234.
- [4] Zoccali C, Bode-Boger S, Mallamaci F, et al. Plasma concentration of asymmetrical dimethylarginine and mortality in patients with end-stage renal disease: a prospective study. *Lancet* 2001; 358:2113-2117.
- [5] Vallance P, Leone A, Calver A, Collier J, Moncada S. Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure. *Lancet* 1992; 339:572-575.
- [6] Siroka R, Cibulka R, Rajdl D, Racek J. [Asymmetric dimethylarginine--a novel cardiovascular risk factor]. *Vnitri lekarstvi* 2006; 52:249-255.
- [7] Moeslinger T, Friedl R, Volf I, et al. Urea induces macrophage proliferation by inhibition of inducible nitric oxide synthesis. *Kidney international* 1999; 56:581-588.
- [8] Levin A, Foley RN. Cardiovascular disease in chronic renal insufficiency. *Am J Kidney Dis* 2000; 36:S24-30.
- [9] Chauhan V, Vaid M. Dyslipidemia in chronic kidney disease: managing a high-risk combination. *Postgraduate medicine* 2009; 121:54-61.
- [10] Voroneanu L, Covic A. Arrhythmias in hemodialysis patients. *Journal of nephrology* 2009; 22:716-725.
- [11] Collins AJ. Cardiovascular mortality in end-stage renal disease. *The American journal of the medical sciences* 2003; 325:163-167.
- [12] Vaziri ND, Wang J, Cesario T, Yousefi S, Valenzuela R, Carandang G. Induction, transcription, synthesis, and adsorption of interleukin-1 by dialyzer membranes. *J Am Soc Nephrol* 1994; 4:1884-1889.
- [13] Weinstein T, Chagnac A, Korzets A, et al. Haemolysis in haemodialysis patients: evidence for impaired defence mechanisms against oxidative stress. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15:883-887.



- [14] Morena M, Cristol JP, Bosc JY, et al. Convective and diffusive losses of vitamin C during haemodiafiltration session: a contributive factor to oxidative stress in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17:422-427.
- [15] Lonnemann G. Chronic inflammation in hemodialysis: the role of contaminated dialysate. *Blood purification* 2000; 18:214-223.
- [16] Santoro A, Mancini E, Spongano M, Rossi M, Paolini F, Zucchelli P. A haemodynamic study of hypotension during haemodialysis using electrical bioimpedance cardiography. *Nephrol Dial Transplant* 1990; 5 Suppl 1:147-153.
- [17] Daugirdas JT. Pathophysiology of dialysis hypotension: an update. *Am J Kidney Dis* 2001; 38:S11-17.
- [18] Barberato SH, Misocami M, Pecoits-Filho R. Association between left atrium enlargement and intradialytic hypotension: role of diastolic dysfunction in the hemodynamic complications during hemodialysis. *Echocardiography (Mount Kisco, NY)* 2009; 26:767-771.
- [19] Owen PJ, Priestman WS, Sigrist MK, et al. Myocardial contractile function and intradialytic hypotension. *Hemodialysis international* 2009; 13:293-300.
- [20] Hasselwander O, Young IS. Oxidative stress in chronic renal failure. *Free radical research* 1998; 29:1-11.
- [21] Galli F, Canestrari F, Bellomo G. Pathophysiology of the oxidative stress and its implication in uremia and dialysis. *Contributions to nephrology* 1999; 127:1-31.
- [22] Al-Hashimi AF, Mohammed FH, Al-Khazragi AS. Oxidative stress in chronic renal failure patients treated by peritoneal dialysis. *Saudi medical journal* 2004; 25:1186-1192.
- [23] Mimic-Oka J, Simic T, Djukanovic L, Reljic Z, Davicevic Z. Alteration in plasma antioxidant capacity in various degrees of chronic renal failure. *Clinical nephrology* 1999; 51:233-241.
- [24] Wiswedel I, Hirsch D, Carluccio F, Hampl H, Siems W. F2-isoprostanes as biomarkers of lipid peroxidation in patients with chronic renal failure. *BioFactors (Oxford, England)* 2005; 24:201-208.
- [25] Miekisch W, Schubert JK, Noeldge-Schomburg GF. Diagnostic potential of breath analysis--focus on volatile organic compounds. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry* 2004; 347:25-39.
- [26] Mendis S, Sobotka PA, Leja FL, Euler DE. Breath pentane and plasma lipid peroxides in ischemic heart disease. *Free radical biology & medicine* 1995; 19:679-684.



-
- [27] Risby TH, Sehnert SS. Clinical application of breath biomarkers of oxidative stress status. *Free radical biology & medicine* 1999; 27:1182-1192.
- [28] Pelli MA, Trovarelli G, Capodicasa E, De Medio GE, Bassotti G. Breath alkanes determination in ulcerative colitis and Crohn's disease. *Diseases of the colon and rectum* 1999; 42:71-76.
- [29] Gelmont D, Stein RA, Mead JF. Isoprene-the main hydrocarbon in human breath. *Biochemical and biophysical research communications* 1981; 99:1456-1460.
- [30] Fenske JD, Paulson SE. Human breath emissions of VOCs. *Journal of the Air & Waste Management Association (1995)* 1999; 49:594-598.
- [31] Karl T, Prazeller P, Mayr D, et al. Human breath isoprene and its relation to blood cholesterol levels: new measurements and modeling. *J Appl Physiol* 2001; 91:762-770.
- [32] Schubert JK, Miekisch W, Geiger K, Noldge-Schomburg GF. Breath analysis in critically ill patients: potential and limitations. *Expert review of molecular diagnostics* 2004; 4:619-629.
- [33] Foster WM, Jiang L, Stetkiewicz PT, Risby TH. Breath isoprene: temporal changes in respiratory output after exposure to ozone. *J Appl Physiol* 1996; 80:706-710.
- [34] Scholpp J, Schubert JK, Miekisch W, Geiger K. Breath markers and soluble lipid peroxidation markers in critically ill patients. *Clin Chem Lab Med* 2002; 40:587-594.
- [35] Wiberley AE, Donohue AR, Westphal MM, Sharkey TD. Regulation of isoprene emission from poplar leaves throughout a day. *Plant, cell & environment* 2009; 32:939-947.
- [36] Taucher J, Hansel A, Jordan A, Fall R, Futrell JH, Lindinger W. Detection of isoprene in expired air from human subjects using proton-transfer-reaction mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom* 1997; 11:1230-1234.
- [37] Smith D, Spanel P, Davies S. Trace gases in breath of healthy volunteers when fasting and after a protein-calorie meal: a preliminary study. *J Appl Physiol* 1999; 87:1584-1588.
- [38] Ueta I, Saito Y, Hosoe M, et al. Breath acetone analysis with miniaturized sample preparation device: in-needle preconcentration and subsequent determination by gas chromatography-mass spectroscopy. *Journal of chromatography* 2009; 877:2551-2556.
- [39] Yamai K, Ohkuwa T, Itoh H, Yamazaki Y, Tsuda T. Influence of cycle exercise on acetone in expired air and skin gas. *Redox Rep* 2009; 14:285-289.



- [40] Chen S, Zieve L, Mahadevan V. Mercaptans and dimethyl sulfide in the breath of patients with cirrhosis of the liver. Effect of feeding methionine. *The Journal of laboratory and clinical medicine* 1970; 75:628-635.
- [41] Van den Velde S, Nevens F, Van Hee P, van Steenberghe D, Quirynen M. GC-MS analysis of breath odor compounds in liver patients. *Journal of chromatography* 2008; 875:344-348.
- [42] Volozhin AI, Filatova ES, Petrovich Iu A, Il'in VK, Fomina OL. [The evaluation of periodontal status by the chemical composition of the oral media]. *Stomatologiya* 2000; 79:13-16.
- [43] Chapman JT, Choi AM. Exhaled monoxides as a pulmonary function test: use of exhaled nitric oxide and carbon monoxide. *Clinics in chest medicine* 2001; 22:817-836.
- [44] Shirai T, Furuhashi K, Suda T, Chida K. Relationship of the asthma control test with pulmonary function and exhaled nitric oxide. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2008; 101:608-613.
- [45] Grossherr M, Hengstenberg A, Meier T, et al. Propofol concentration in exhaled air and arterial plasma in mechanically ventilated patients undergoing cardiac surgery. *British journal of anaesthesia* 2009; 102:608-613.
- [46] Miekisch W, Fuchs P, Kamysek S, Neumann C, Schubert JK. Assessment of propofol concentrations in human breath and blood by means of HS-SPME-GC-MS. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry* 2008; 395:32-37.
- [47] Hornuss C, Praun S, Villinger J, et al. Real-time monitoring of propofol in expired air in humans undergoing total intravenous anesthesia. *Anesthesiology* 2007; 106:665-674.
- [48] Miekisch W, Schubert JK, Vagts DA, Geiger K. Analysis of volatile disease markers in blood. *Clinical chemistry* 2001; 47:1053-1060.
- [49] Davies S, Spanel P, Smith D. A new 'online' method to measure increased exhaled isoprene in end-stage renal failure. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16:836-839.
- [50] Trovarelli G, Brunori F, De Medio GE, et al. Onset, time course, and persistence of increased haemodialysis-induced breath isoprene emission. *Nephron* 2001; 88:44-47.
- [51] Lirk P, Bodrogi F, Raifer H, Greiner K, Ulmer H, Rieder J. Elective haemodialysis increases exhaled isoprene. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18:937-941.
- [52] Capodicasa E, Trovarelli G, Brunori F, et al. Lack of isoprene overproduction during peritoneal dialysis. *Perit Dial Int* 2002; 22:48-52.



- [53] Capodicasa E, Brunori F, De Medio GE, Pelli MA, Vecchi L, Buoncristiani U. Effect of two-hour daily hemodialysis and sham dialysis on breath isoprene exhalation. *The International journal of artificial organs* 2007; 30:583-588.
- [54] Pabst F, Miekisch W, Fuchs P, Kischkel S, Schubert JK, Monitoring of oxidative and metabolic stress during cardiac surgery by means of breath biomarkers: an observational study. *Journal of cardiothoracic surgery*, 2007: 37.
- [55] Straver B, de Vries PM, ten Voorde BJ, Roggekamp MC, Donker AJ, ter Wee PM. Intradialytic hypotension in relation to pre-existent autonomic dysfunction in hemodialysis patients. *The International journal of artificial organs* 1998; 21:794-801.
- [56] Lebovitz HE. Diabetic ketoacidosis. *Lancet* 1995; 345:767-772.
- [57] Morita S, Snider MT, Inada Y. Increased N-pentane excretion in humans: a consequence of pulmonary oxygen exposure. *Anesthesiology* 1986; 64:730-733.
- [58] Hwang ES, Kim GH. Biomarkers for oxidative stress status of DNA, lipids, and proteins in vitro and in vivo cancer research. *Toxicology* 2007; 229:1-10.
- [59] Rysz J, Kasielski M, Apanasiewicz J, et al. Increased hydrogen peroxide in the exhaled breath of uraemic patients unaffected by haemodialysis. *Nephrol Dial Transplant* 2004; 19:158-163.
- [60] Aghdassi E, Allard JP. Breath alkanes as a marker of oxidative stress in different clinical conditions. *Free radical biology & medicine* 2000; 28:880-886.
- [61] Martin-Mateo MC, Sanchez-Portugal M, Iglesias S, de Paula A, Bustamante J. Oxidative stress in chronic renal failure. *Renal failure* 1999; 21:155-167.
- [62] Inagi R, Miyata T. Oxidative protein damage with carbohydrates and lipids in uremia: 'Carbonyl stress'. *Blood purification* 1999; 17:95-98.
- [63] Morena M, Cristol JP, Canaud B. Why hemodialysis patients are in a prooxidant state? What could be done to correct the pro/antioxidant imbalance. *Blood purification* 2000; 18:191-199.
- [64] Schubert JK, Miekisch W, Birken T, Geiger K, Noldge-Schomburg GF. Impact of inspired substance concentrations on the results of breath analysis in mechanically ventilated patients. *Biomarkers* 2005; 10:138-152.
- [65] Birken T, Schubert J, Miekisch W, Noldge-Schomburg G. A novel visually CO₂ controlled alveolar breath sampling technique. *Technol Health Care* 2006; 14:499-506.
- [66] Phillips M. Method for the collection and assay of volatile organic compounds in breath. *Analytical biochemistry* 1997; 247:272-278.



- [67] Miekisch W, Kischkel S, Sawacki A, Liebau T, Mieth M, Schubert JK. Impact of sampling procedures onto results of breath analysis. *Journal of Breath Research* 2008; 2 No 2 (June 2008) 026007 (026007pp).
- [68] Phillips M, Greenberg J. Method for the collection and analysis of volatile compounds in the breath. *Journal of chromatography* 1991; 564:242-249.
- [69] Schubert JK, Spittler KH, Braun G, Geiger K, Guttman J. CO₂-controlled sampling of alveolar gas in mechanically ventilated patients. *J Appl Physiol* 2001; 90:486-492.
- [70] Cahill PA, Anderson RA, Riley ME. Antiproton storage materials: Response of neon, argon, and benzene to a negative particle. *Physical review* 1990; 41:2315-2321.
- [71] Pariselli F, Sacco MG, Ponti J, Rembges D. Effects of toluene and benzene air mixtures on human lung cells (A549). *Exp Toxicol Pathol* 2009; 61:381-386.
- [72] Berlin M, Gage JC, Gullberg B, et al. Breath concentration as an index of the health risk from benzene. *Scandinavian journal of work, environment & health* 1980; 6:104-111.
- [73] Turner C, Spanel P, Smith D. A longitudinal study of breath isoprene in healthy volunteers using selected ion flow tube mass spectrometry (SIFT-MS). *Physiological measurement* 2006; 27:13-22.
- [74] Kushch I, Arendacka B, Stolc S, et al. Breath isoprene--aspects of normal physiology related to age, gender and cholesterol profile as determined in a proton transfer reaction mass spectrometry study. *Clin Chem Lab Med* 2008; 46:1011-1018.
- [75] Watanabe S, Suzuki N, Kudo A, et al. Influence of aging on cardiac function examined by echocardiography. *The Tohoku journal of experimental medicine* 2005; 207:13-19.
- [76] Yoon SJ, Yoon YW, Lee BK, et al. Potential role of HMG CoA reductase inhibitor on oxidative stress induced by advanced glycation endproducts in vascular smooth muscle cells of diabetic vasculopathy. *Experimental & molecular medicine* 2009; 41:802-811.
- [77] Steensma DP, Witzig TE. Elevated serum LDH in patients with non-Hodgkin's lymphoma: not always an ominous sign. *British journal of haematology* 1999; 107:463-464.
- [78] Legrand C, Bour JM, Jacob C, et al. Lactate dehydrogenase (LDH) activity of the cultured eukaryotic cells as marker of the number of dead cells in the medium [corrected]. *Journal of biotechnology* 1992; 25:231-243.



-
- [79] Thomas G, Murthy VV. Erythrocyte adenylate kinase isoenzyme as a marker for hemolysis. *Journal of clinical laboratory analysis* 1997; 11:351-356.
- [80] Schrocksnadel H, Sitte B, Steckel-Berger G, Dapunt O. Hemolysis in hypertensive disorders of pregnancy. *Gynecologic and obstetric investigation* 1992; 34:211-216.



7 Thesen

1. Dialysepatienten sind zumeist multimorbide Patienten, die ein signifikant erhöhtes Risikoprofil hinsichtlich des Auftretens von Infektionen, metabolischen Entgleisungen, Malignomen und insbesondere kardiovaskulären Erkrankungen aufweisen. Sie könnten vom Einsatz nichtinvasiver diagnostischer Methoden, wie z. B. der Atemgasanalytik, in hohem Maße profitieren.
2. Die Atemgasprobennahme muss unter visueller kapnographischer Kontrolle des endtidalen CO_2 -Partialdruckes erfolgen. Denn ausschließlich die in der Alveolarphase des Atemzyklus gewonnenen Atemgasproben können die korrespondierenden Blutkonzentrationen der untersuchten Substanzen und damit die momentane Stoffwechsellage abbilden.

Die ergänzende Analyse von Raumluftproben liefert wichtige Informationen zur Unterscheidung der im Organismus entstandenen endogenen VOCs (volatile organic compounds – flüchtige organische Substanzen) von VOCs exogener Herkunft.

3. Die Abatmungskinetik des Isoprens unterliegt einer Abhängigkeit zum Herzzeitvolumen. Es zeigt sich diesbezüglich nach Beginn einer Dialysesitzung ein signifikanter Konzentrationsabfall des Isoprens mit nachfolgendem Wiederanstieg bis zum Ende der Nierenersatzbehandlung in Korrespondenz zum Druck-Frequenz-Produkt ($\text{DFP} = \text{MAD} \times \text{HF}$).
4. Das Ausmaß einer unter Dialyse auftretenden Hämolyse ist mittels der Bestimmung von Isoprenkonzentrationen in der Ausatemluft objektivierbar.
5. Pentan ist ein etablierter Atemgasmarker für oxidativen Stress. Dessen signifikante Konzentrationselevation unter Dialyse zeigt bei terminal niereninsuffizienten Patienten einen vermehrten oxidativen Stress zu Beginn der Nierenersatztherapie an.



-
6. Insulinpflichtige diabetische Dialysepatienten weisen im Vergleich zu denen ohne Diabetes eine erhöhte Empfindlichkeit gegenüber peroxidativer Aktivität auf, objektivierbar an einem bereits innerhalb der ersten Stunde der Dialysebehandlung auftretenden Pentankonzentrationsanstieg.
 7. Die medikamentöse Therapie mit Statinen oder ACE-Inhibitoren, welcher ein antioxidativer Nebeneffekt unterstellt wird, hat keinen Einfluss auf die Exhalation von Pentan als Marker für oxidativen Stress.
 8. Während das Geschlecht keinen Einfluss auf die Exhalation von Pentan, Isopren oder Aceton hat, besteht eine statistisch signifikante negative Korrelation zum einen zwischen dem Alter und den Isoprenkonzentrationen im Atemgas und zum anderen zwischen dem Body-Mass-Index und den Acetonkonzentrationen im Atemgas.
 9. Eine Abschätzung der Effektivität einer Hämodialysetherapie anhand der untersuchten VOC-Konzentrationsbestimmungen im Atemgas ist nicht möglich.