

Aus dem Zentrum für Kinder- und Jugendmedizin
des Klinikums der Johann Wolfgang Goethe - Universität
Frankfurt am Main
Allergologie, Pneumologie und Mukoviszidose
Leiter: Prof. Dr. med. S. Zielen

**Vergleich zweier Kurzprotokolle der
bronchialen Methacholinprovokation:
PC₂₀ FEV₁ versus PD₂₀ FEV₁**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin
des Fachbereichs Humanmedizin der
Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main

vorgelegt von
Carsten Volker Riemer
aus Offenbach

Frankfurt am Main, 2009

Dekan: Prof. Dr. J. Pfeilschifter

Referent: Prof. Dr. med. S. Zielen

Korreferent: Prof. Dr. med. T. Wagner

Tag der Disputation: 02.09.2010

Gewidmet

meinen Großeltern Maria & Adolf Hönig

und meinen Eltern Petra & Volker Riemer

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung.....	6
1.1 Abkürzungen	6
1.2 Asthma bronchiale.....	7
1.3 Bronchiale Methacholinprovokation.....	8
1.4 Zielsetzung	10
2. Probanden, Material und Methoden	11
2.1 Probandenkollektiv	11
2.1.1 Einschlusskriterien	12
2.1.2 Ausschlusskriterien	12
2.2 Studiendesign.....	13
2.3 Methacholinprovokation und Spirometrie	14
2.3.1 Gemeinsame Methoden an beiden Visiten	14
2.3.2 PC ₂₀ FEV ₁ - Provokationsprotokoll (SDM).....	15
2.3.3 PD ₂₀ FEV ₁ - Provokationsprotokoll (APS-SC).....	17
2.4 FeNO – Messung.....	18
2.5 Statistische Auswertung	19
3. Ergebnisse	20
4. Diskussion	25
5. Zusammenfassung.....	33
6. Summary	35
7. Anhang	37
8. Abbildungs- und Tabellenverzeichnis.....	51
9. Literaturverzeichnis	52
10. Danksagung	56
11. Lebenslauf.....	57
12. Schriftliche Erklärung	58

1. Einleitung

1.1 Abkürzungen

- APS Aerosol-Provokations-System (Fa. Cardinal Health)
- ATS American Thoracic Society
- BHR Bronchiale Hyperreagibilität
- (Fe)NO (fraktioniertes exhalierendes) Stickstoff-Monooxid

- FEV₁ Forciertes expiratorisches Volumen in 1 Sekunde
- VC Vitalkapazität
- TLC Totale Lungkapazität

- MCP Methacholinprovokation
- PC₂₀ FEV₁ Provocative *concentration* of methacholine inducing a 20% drop in FEV₁
- PCD₂₀ Methacholindosis zum Zeitpunkt PC₂₀
- PD₂₀ FEV₁ Provocative *dose* of methacholine inducing a 20% drop in FEV₁

- SDM Standard Dosimeter Methode (PC₂₀ FEV₁)
- APS-SC APS-single concentration (PD₂₀ FEV₁)

1.2 Asthma bronchiale

Asthma ist eine chronisch entzündliche Erkrankung der Atemwege, die durch bronchiale Hyperreagibilität (BHR) und Episoden variabler Atemwegsobstruktion charakterisiert ist.

Klinisch imponiert ein buntes Bild an respiratorischen Symptomen: typisch sind Husten, erschwerte Atmung bzw. Atemnot und pfeifende Atemgeräusche (Giemen), insbesondere nachts oder am frühen Morgen.

Asthma beginnt häufig schon im frühen Kindesalter und kann schon zu diesem Zeitpunkt chronisch werden [1]. Das Asthma kann sich im Verlauf spontan oder durch pharmakologische Modifikation bessern [2]. Ein weiteres kennzeichnendes Merkmal ist, dass die Entzündung auch bei asymptomatischen Patienten in den Atemwegen persistiert, so dass auch diese Patienten einen asthmatischen Anfall erleiden können, wenn die empfindlichen Bronchien auf einen exogenen Reiz (Allergen, unspezifischer Reizstoff, kalte Luft oder Anstrengung) reagieren [3].

Der Ausdruck „bronchiale Hyperreagibilität“ bezeichnet eine gesteigerte Bereitschaft der Atemwege, auf spezifische (Allergene) oder unspezifische Reize (Methacholin, Histamin, Kaltluft, etc.) zu reagieren. Dabei lässt sich zwischen einer akut-reversiblen Entzündungsreaktion mit daraus resultierender Hyperreagibilität und einer chronisch-irreversiblen Hyperreagibilität unterscheiden [4]: Erstere beruht pathophysiologisch im Wesentlichen auf einer Entzündungsreaktion, in deren Rahmen verschiedene Mediatoren ausgeschüttet werden, darunter IL-4 und IL-5, die zur Rekrutierung von B-Lymphozyten und zur Produktion von IgE führen. Im Verlauf kommt es zu einer IgE-vermittelten Degranulation von Mastzellen, bei der vor allem Histamin und Leukotriene frei werden, welche die asthmatypischen Beschwerden hervorrufen.

Im chronischen Verlauf spielen dagegen strukturelle Umbauprozesse in der Lunge die Hauptrolle (Stichwort

„Remodelling“): Hierbei kommt es zu einer Verdickung der Atemwegswände durch Kollageneinlagerung und Muskelhypertrophie / -hyperplasie, was unweigerlich zu einer chronischen Obstruktion führt [4].

Ein weiterer Mechanismus der Hyperreagibilität ist die bei Asthmatikern veränderte Zusammensetzung der Muskelfilamente Aktin und Myosin. Es finden sich bei betroffenen Patienten vermehrt solche Isoformen, die eine höhere Bereitschaft zur Kontraktion haben und damit zu einer stärkeren Reizantwort als bei gesunden Personen führen [5].

1.3 Bronchiale Methacholinprovokation

Methacholin ist ein synthetischer Muscarinagonist, der die Kontraktion glatter Atemwegsmuskulatur vermittelt und so eine Obstruktion der Atemwege bewirkt. Methacholin wird langsamer als Histamin durch die Cholinesterase abgebaut. Dies hat den Vorteil, dass bei der bronchialen Provokation eher eine kumulative Dosis erreicht wird. Es kommt dabei vorübergehend zu Husten, Giemen, Dyspnoe und Atemnot [6].

Methacholin wird in physiologischer Kochsalzlösung gelöst und ist im Kühlschrank bei 4° Celsius 3 Monate stabil [6]. Seit Juli 2000 ist Methacholin vom Bundesinstitut für Arzneimittel in Deutschland für die unspezifische bronchiale Provokation zugelassen.

Die unspezifische bronchiale Provokation mit Methacholin ist ein sehr sicheres Standardverfahren [7] zur individuellen Beurteilung der Hyperreagibilität der Atemwege [8]. Sie ist von der Deutschen Gesellschaft für Pneumologie und Beatmungsmedizin e.V. (DGP) in die Leitlinie zur Asthmadiagnostik aufgenommen. Da die BHR ein Kerncharakteristikum des Asthma bronchiale ist, stellt deren Nachweis einen wichtigen Baustein in der Diagnose der Erkrankung dar [7]. Es gibt prinzipiell zwei Methoden der MCP:

PC₂₀ FEV₁

Bei der PC₂₀ FEV₁ - Methode existieren viele verschiedene Durchführungsvarianten. Von der ATS empfohlen werden jedoch nur das „two minutes tidal breathing dosing protocol“ und das „five-breath dosimeter protocol“ [6]: Bei letztgenanntem Test wird in einem mehrstufigen Protokoll für jede Stufe eine neue Methacholinlösung mit höherer Konzentration in das Provokationsgerät gefüllt und an den Patienten abgegeben. Die Inhalationszeiten für den Patient sind hierbei in jeder Stufe gleich bzw. es werden in jeder Stufe fünf Atemzüge aus dem Provokationsgerät inhaliert. Die Steigerung der kumulativen Dosis erfolgt also durch Modifikation der Methacholin-konzentrationen.

Als Ergebnis des Tests erhält der Untersucher diejenige Methacholinkonzentration, bei der die FEV₁ des Patienten um mehr als 20% des Ausgangswertes gefallen ist (= PC₂₀ FEV₁). Hatte dieses Verfahren zu Beginn seiner Anwendung noch bis zu 13 Provokationsstufen und damit einen sehr hohen Zeitaufwand, existiert mittlerweile ein Protokoll mit nur noch fünf Stufen, welches ein hohes Maß an Sicherheit für den Patienten bietet und aussagekräftige Ergebnisse liefert [6]. Diese „Standard-Dosimeter-Methode (SDM)“ verwendeten wir auch in unserer Studie, entsprechende Grenzwerte hierfür wurden 1999 durch die ATS definiert:

Tabelle 1: Grenzwerte für PC₂₀ FEV₁ -Provokation nach ATS [6]

PC₂₀ [mg·ml⁻¹]	Interpretation der BHR
> 8,0	normal
4,0 – 8,0	grenzwertig
1,0 – 4,0	mild
< 1,0	mittelschwer bis schwer

PD₂₀ FEV₁

Die PD₂₀ FEV₁ - Methode verwendet im Gegensatz zur PC₂₀ FEV₁-Methode nur eine Methacholinlösung mit definierter Konzentration für alle Teststufen. Der Patient atmet in jeder Stufe über einen immer länger werdenden Zeitraum aus dem Vernebler, so dass hierbei die kumulative Dosis durch Modifikation der Inhalationszeit erreicht wird. Als Ergebnis wird in dieser Methode die Methacholindosis errechnet, bei der die FEV₁ des Patienten um mehr als 20% vom Ausgangswert gefallen ist (= PD₂₀ FEV₁).

1.4 Zielsetzung

Für den Vergleich beider Methoden (PC₂₀ FEV₁ vs. PD₂₀ FEV₁) gibt es bislang nur eine Studie, die bei jungen Erwachsenen ein langes Standardprotokoll untersucht [9]. Über die Korrelation der beiden Methoden PC₂₀ FEV₁ und PD₂₀ FEV₁ in einem Kurzprotokoll gibt es noch keine Daten.

Die momentan gültige Schweregradeinteilung für die BHR ist in den ATS-Kriterien anhand der Konzentrationsstufen aus der PC₂₀ FEV₁ -Provokation festgelegt [6] und kann der Tabelle 1 entnommen werden.

Für eine PD₂₀ FEV₁ - Provokation allerdings fehlt eine solche Klasseneinteilung. Mit unserer Studie wollen wir daher für dieses dosisbasierte Provokationsverfahren Grenzwerte festlegen, welche die klinische Interpretation der Ergebnisse ermöglichen. Zusätzlich soll quantifiziert werden, in wie weit diese Methode einen zeitlichen Vorteil im alltäglichen Klinik-/Praxisbetrieb erbringen kann und ob sie eine vergleichbare Sicherheit für den Patienten aufweist.

2. Probanden, Material und Methoden

2.1 Probandenkollektiv

In die Studie wurden 55 Probanden mit bekannter BHR eingeschlossen und in der Ambulanz für pädiatrische Pneumologie und Allergologie der Klinik 1 für Kinder- und Jugendmedizin der Goethe-Universität Frankfurt am Main untersucht.

Zwei Probanden konnten aus persönlichen Gründen an der zweiten Visite nicht teilnehmen; sie wurden daher sekundär ausgeschlossen und in der Auswertung nicht berücksichtigt. Ein weiterer Proband begann zwischen den Visiten eine Therapie mit inhalativen Steroiden und musste daher ebenso ausgeschlossen werden.

Letztendlich wurden somit 31 weibliche und 21 männliche Probanden im Alter von 14 bis 45 Jahren (Mittelwert 25 Jahre, SD 5,8) in die Studie aufgenommen, wovon die meisten Personen aus früheren Studien bekannt waren und nun erneut rekrutiert wurden. Das Vorliegen einer BHR wurde mit Hilfe eines standardisierten Fragebogens erfasst (siehe Anlage 7.5). Die durchschnittlichen Charakteristika der Probandinnen und Probanden können Tabelle 2 entnommen werden, eine genaue Aufstellung aller Merkmale und Werte findet sich im Anhang (siehe Anlage 7.2).

Die Studie wurde durch die Ethikkommission der Universitätsklinik Frankfurt genehmigt (positives Votum im Anhang, siehe Anlage 7.1). Alle Probanden erhielten eine ausführliche mündliche und schriftliche Aufklärung über Ziele und Ablauf der Studie sowie über mögliche Nebenwirkungen. Die Teilnahme erfolgte freiwillig und mit schriftlichem Einverständnis, ein Abbruch der Studie war jederzeit und ohne Angabe von Gründen für alle Probanden – bei Minderjährigen für deren Eltern – möglich.

Tabelle 2: Probandencharakteristika

Merkmal	Mittelwert / SD
Anzahl Probanden [n]	52
Geschlecht [w / m]	31 / 21
Alter [Jahre]	25 ± 5,8
Größe [cm]	174,1 ± 9,5
Gewicht [kg]	67,3 ± 14,3
Raucher [n / %]	9 / 17,3
FEV ₁ [%Soll]	102,7 ± 13,0
VC [%Soll]	97,9 ± 13,4
FeNO [ppb]	40,2 ± 34,9

2.1.1 Einschlusskriterien

- Alter > 12 Jahre beziehungsweise < 45 Jahre
- Vorliegen einer bekannten BHR
- Schriftliches Einverständnis nach Aufklärung.

2.1.2 Ausschlusskriterien

- Alter < 12 Jahre beziehungsweise > 45 Jahre
- Klinisch manifestes Asthma bronchiale mit regelmäßiger Inhalation
- Therapie mit inhalativen oder systemischen Kortikosteroiden
- Schwangerschaft und Stillzeit
- Bekannter Alkohol-/Drogen-/Medikamentenmissbrauch
- Unfähigkeit zum Verständnis der Tragweite der Studie

2.2 Studiendesign

Die Studie wurde von März 2007 bis November 2008 durchgeführt und umfasste für jeden Probanden zwei Visiten in der Ambulanz für pädiatrische Pneumologie und Allergologie der Kinderklinik der Goethe – Universitätsklinik Frankfurt am Main.

Visite 1 umfasste neben der Aufklärung und Einverständniserklärung, bei Minderjährigen die der Erziehungsberechtigten, eine spezifische Anamnese mit orientierender körperlicher Untersuchung. Ferner wurden als Basiswerte Alter, Körpergröße, Körpergewicht, BMI, Sauerstoffsättigung, Ruhepuls und FeNO (NIOX Flex[®] / NIOX MINO[®], Aerocrine AB, Schweden) erhoben. Anhand einer Randomisierungstabelle (Lothar Sachs, ‚Angewandte Statistik‘, 9. Auflage, Springer, S.101) wurde der Proband anschließend zufällig einem der beiden Provokationsverfahren, PC₂₀ FEV₁ oder PD₂₀ FEV₁, zugeordnet und noch am gleichen Tag entsprechend provoziert (siehe Abschnitt 2.3).

Im Rahmen der 2. Visite wurden die Probanden mit dem jeweils anderen Provokationsverfahren untersucht. Dabei wurde darauf geachtet, dass diese zweite Provokation frühestens 48 Stunden nach der ersten Visite durchgeführt wurde, um Nachwirkungen des Methacholin auf den zweiten Test zu verhindern. Eine solche Nachwirkung konnten Beckett et. al in ihrer Studie zeigen: ein verkürzter Zeitabstand zwischen zwei bronchialen Provokationen mit Methacholin hat einen tachyphylaktischen Effekt, durch den die Reaktion auf einen zweiten Provokationstest geringer ausfällt [10].

In regelmäßigen Abständen fand ein internes Monitoring durch eine diplomierte Studienschwester statt.

2.3 Methacholinprovokation und Spirometrie

2.3.1 Gemeinsame Methoden an beiden Visiten

Für beide Provokationsverfahren wurde die Spirometrie mit Hilfe des computergestützten standardisierten Spirometers MasterScreen® (Cardinal Health Inc., Dublin, Ohio, USA - vormals Viasys Healthcare GmbH, Höchberg, Deutschland) durchgeführt. Das Gerät wurde jeden Tag vor Messung des ersten Probanden mit der zugehörigen Testpumpe auf ein festgelegtes Testvolumen kalibriert.

Anhand der eingegebenen Patientendaten (Geschlecht, Alter, Größe, Gewicht) berechnete der Computer die Erwartungswerte (Soll) für sämtliche spirometrischen Parameter. Nach Abschluss der Provokation wurden die gemessenen Ist-Werte zu den Soll-Werten in Bezug gesetzt und als Prozentwerte ausgegeben.

Das Ergebnis der ersten Spirometrie vor Beginn der Provokation wurde für jeden Probanden und Untersuchungsgang als 100%-Ausgangswert gespeichert. Nach den einzelnen Provokationsstufen wurde nach einer Einwirkzeit von zwei Minuten die spirometrische Untersuchung erneut durchgeführt und die FEV₁ sowie andere Spirometrieparameter mit den Ausgangswerten verglichen. Im Rahmen der Messung wurden die Probanden kontinuierlich angeleitet und motiviert, um die Mitarbeit zu optimieren und möglichst genaue Ergebnisse zu erzielen.

Die Berechnung der PD₂₀ beim APS-SC-Verfahren erfolgte im Anschluss an den Testdurchlauf automatisch, da der MasterScreen Daten aus dem APS-System (siehe 2.3.3) übernehmen und verwerten kann. Für die SDM wurde die PC₂₀ mit Hilfe einer Excel-Tabelle durch logarithmische Interpolation der Messwerte vor und nach dem 20%-Abfall errechnet [11]. Die Formel hierfür lautet:

$$PC_{20} = \text{antilog} \left[\log C_1 + \frac{(\log C_2 - \log C_1) \cdot (20 - R_1)}{R_2 - R_1} \right]$$

C_1 / C_2 = Konzentrationen vor / bei 20% FEV₁-Abfall
 R_1 / R_2 = FEV₁ nach C_1 / C_2

Nach Erreichen der 20%-Grenze erhielt der Proband als Bronchodilatator ein bis zwei Hübe Salbutamol[®]-DA 0,2 mg. Fünf Minuten nach Broncholyse wurde erneut eine Spirometrie durchgeführt und der Proband bei Erreichen von mehr als 80% der Anfangs-FEV₁ und subjektiver Beschwerdefreiheit aus der Ambulanz entlassen. Andernfalls wurde die Gabe von Salbutamol bis zur Besserung der Symptomatik fortgesetzt, selbstverständlich ohne dabei die zulässigen Höchstdosen zu überschreiten.

Für den Fall des Durchlaufens aller Teststufen ohne einen 20%-igen Abfall der FEV₁ war routinemäßig keine Gabe von Bronchodilatoren vorgesehen; hier erfolgte dies nur bei subjektiven Beschwerden des Probanden.

Durch Befragung und Information der Probanden wurde vor jeder Visite sichergestellt, dass bis zu acht Stunden vor der Untersuchung keine kurzwirksamen Beta-2-Mimetika, bis zu 24 Stunden zuvor keine langwirksamen Beta-2-Mimetika und bis zu zwei Wochen zuvor keine inhalativen oder systemischen Kortikosteroide eingenommen wurden.

Während der Untersuchungen erfolgte eine konsequente Überwachung von Pulsfrequenz und peripherer Sauerstoffsättigung mit Hilfe eines tragbaren Messgerätes (OxiMax N-65, Nellcor P.B. Inc., Pleasanton CA USA).

2.3.2 PC₂₀ FEV₁ - Provokationsprotokoll (SDM)

Wir verwendeten für diese Methode ein ZAN 200 ProvAir II[®] - Dosimeter (nSpire Health GmbH, Oberthulba, Deutschland), bestehend aus einem 2,4 bar starken Kompressor sowie einer abgesetzten und über Schläuche verbundenen Verneblereinheit mit Mundstück. An das Mundstück des Probanden wird ein Gerät zur Atemflusserkennung angesteckt, welches nach Freigabe durch den Untersucher mittels Fernbedienung die Inspiration des Probanden detektiert und an den Kompressor zurückmeldet. Hier wird dann

automatisch für 0,6 Sekunden ein Druckventil geöffnet, wodurch die Provokationslösung in der Verneblereinheit mit einem Volumen von 9 μL bei 2,0 bar ($\pm 5\%$) vernebelt wird. Als Vernebler verwendeten wir einen „DeVilbiss 646“ (DeVilbiss Co., Sommerset, USA), der pro Verneblung circa 14 mg Inhalat in einer Partikelgröße von 5 μm erzeugt.

Die Herstellung der unterschiedlichen Methacholinlösungen für die Provokation erfolgte aus der in unserer Ambulanz standardmäßig verwendeten Stammlösung in einer Konzentration von 16 $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$, entsprechend 800 mg Methacholin (Firma Fagron, Barsbüttel, Deutschland) gelöst in 50 ml NaCl 0,9%. Das Methacholin ist zuvor durch unsere Klinikapotheke abgefüllt worden. Diese Stammlösung wurde entsprechend dem Protokoll (siehe Anhang) mit 0,9%-iger Kochsalzlösung verdünnt, womit letztlich Lösungen der Konzentrationen 0,0625 $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$, 0,25 $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$, 1,0 $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$, 4,0 $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ und 16,0 $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ entstanden, welche im Kühlschrank der Ambulanz aufbewahrt und nach spätestens 3 Monaten verworfen und erneuert wurden.

Das von uns verwendete Protokoll zur bronchialen Provokation mit Methacholin (siehe Tabelle 2) orientierte sich an dem von der ATS 1999 vorgeschlagenen „five-breath-Kurzprotokoll“ [6]. Der Proband soll hierbei in jeder Provokationsstufe hintereinander fünf tiefe und möglichst gleichmäßige Atemzüge bis zur TLC aus dem Vernebler inhalieren, anschließend die Luft für etwa fünf Sekunden anhalten und erst danach wieder ausatmen.

Nach der initialen Spirometrie wurde dem Probanden dem beschriebenen Schema folgend Methacholin in ansteigenden Konzentrationen verabreicht (siehe Tabelle 3). Dabei wurde das Inhalat über ein Mundstück an den Probanden abgegeben, während die Nase durch eine Nasenklammer verschlossen war.

Die Dosis des abgegebenen Methacholins bestimmten wir durch Ermitteln der verbrauchten Menge an Provokationslösung. Hierzu

wurde der Vernebler samt Inhalt vor und nach der Provokationsstufe mit einer auf 0,1 mg genauen Waage (Kern 440-21a, Kern&Sohn GmbH, Balingen, Deutschland) gewogen. Aus der Gewichts Differenz und der Konzentration der Lösung errechneten wir die abgegebene Methacholindosis pro Stufe sowie die Kumulativdosen aller durchlaufenen Stufen.

Tabelle 3: Stufenschema der SDM (PC₂₀ FEV₁)

Stufe	Konzentration der Methacholinlösung [mg·ml ⁻¹]
1	0,0625
2	0,25
3	1,0
4	4,0
5	16,0

2.3.3 PD₂₀ FEV₁ - Provokationsprotokoll (APS-SC)

Mit dem Aerosol Provokations System (Cardinal Health Inc., Dublin, Ohio, USA) steht ein strömungsgesteuertes Verneblersystem zur Verfügung, das dosiert ein Aerosol erzeugt und der Inspirationsluft zumischt. Somit ist eine exakte Dosierung garantiert, die an den Patienten appliziert wird und eine korrekte Dosis-/Konzentrationsberechnung möglich macht. Das System überwacht die Probandenatmung mit Hilfe eines integrierten Flowsensors zur Erkennung des inspiratorischen Flusses sowie der Inspirationszeit. Damit ist die Inhalation einer genau bestimmten Menge Methacholin möglich. Bei Kindern ist diese Methode gut reproduzierbar [12].

Der Medic Aid Vernebler vernebelt das Aerosol mit einer Leistung von 160 mg/min. Die Partikelgröße beträgt 3,2 µm. Die inhalierte und deponierte Menge des Aerosols hängen ab von Atemlage (FRC), Einatemtiefe (VT, IVC), Einatemgeschwindigkeit (V') und Einatemdauer. Die Zeit sollte möglichst länger als 5 sec und die Strömung unter 0,5 l/s sein.

Verwendet wurde eine mittlere Methacholinkonzentration ($16 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$), von der bekannt ist, dass Gesunde – wenn überhaupt – nur geringfügig mit einem Anstieg der Strömungswiderstände und entsprechendem Abfall der FEV_1 reagieren.

Für die Provokationsuntersuchung in dieser Studie verwendeten wir ein eigenes Protokoll (Tabelle 4), das bis zu fünf Dosisapplikationen vorsah. Beginnend mit 0,01 mg Methacholin folgten vier weitere Stufen mit 0,10 mg - 0,40 mg - 0,80 mg und 1,60 mg, so dass bei Durchlaufen aller Stufen kumulativ maximal 2,91 mg Methacholin abgegeben wurden. Nach jeder Provokationsstufe wurde nach Ablauf einer Einwirkzeit von zwei Minuten die spirometrische Untersuchung durchgeführt (siehe 2.3.1).

Tabelle 4: Stufenschema der APS-SC Methode ($\text{PD}_{20} \text{FEV}_1$)

Stufe	Stufendosis Methacholin [mg]	Kumulativedosis Methacholin [mg]
1	0,01	0,01
2	0,10	0,11
3	0,40	0,51
4	0,80	1,31
5	1,60	2,91

2.4 FeNO-Messung

Die FeNO-Konzentration in der ausgeatmeten Luft wurde mit Hilfe eines Chemiluminescence-Analysators (NIOX® Nitric Oxide Monitoring System, Aerocrine, Sweden) bestimmt. Das Gerät arbeitet mit NO- freier Luft (gefilterte Inhalationsluft), um eine Kontamination mit hohen NO-Werten in der Raumluft zu verhindern. Der Proband inhaliert bis zur TLC Luft aus dem Gerät und atmet langsam (10 Sekunden, ohne Absetzen des Mundstückes) in das Gerät zurück. Das System hält die Exhalation durch Anlegen eines

entsprechenden Ausatemwiderstandes auf einem konstanten Fluss von 50 ml/sec. Der FeNO-Wert wird entsprechend den ATS Kriterien berechnet, indem ein Plateauwert ermittelt wird [13]. Die Messung wurde im Rahmen der ersten Visite jeweils vor den spirometrischen Untersuchungen durchgeführt.

2.5 Statistische Auswertung

Die digitale Erfassung und Speicherung aller Rohwerte erfolgte mit Hilfe des Programms Microsoft[®] Excel 2000 (Microsoft Cooperation, USA).

Die statistische Berechnung und Signifikanzprüfung aller Daten wurde mit BiAS für Windows[™] (Version 8, epsilon-Verlag, Frankfurt) durchgeführt.

Dabei benutzten wir die Pearson-Korrelation als notwendige Voraussetzung eines Zusammenhangs beider Methoden. Die initiale Festlegung der Methacholin-Grenzwerte erfolgte mit Hilfe des Hahn-Prognose Intervalls, einer erweiterten linearen Regressionsrechnung. Für diese Grenzwerte und Dosisbereiche berechneten wir Cohens Kappa, womit jeweils noch die Urteilsübereinstimmung geprüft wurde. Um die Signifikanz unserer Untersuchung weiter zu verbessern, führten wir den McNemar-Test durch. Dieser überprüft anhand einer Vierfelder-Tabelle, ob die eine Nichtübereinstimmung anzeigenden Häufigkeiten (in der vorliegenden Studie also Patienten, die nur auf einen der beiden Provokationstests reagiert haben) mehr als nur zufällige Unterschiede aufweisen. Der McNemar-Test würde beispielsweise bei einer inhomogenen Verteilung dieser Probanden signifikant werden ($p > 0,05$).

3. Ergebnisse

Zeitaufwand

Der durchschnittliche Zeitaufwand bis zum Erreichen des 20%-Abfalls der FEV₁ für die SDM betrug 23,4 Minuten (SD 6,0), für die APS-SC Methode 15,3 Minuten (SD 6,0). Daraus ergibt sich ein mittlerer Zeitvorteil für das letztgenannte Verfahren von 8,2 Minuten ($p < 0,001$; 95%-Konfidenzintervall 6,9 – 9,5 Minuten). Diese Zeiten repräsentieren jeweils nur die reine Messdauer; Vor- und Nachbereitung sowie zusätzlich notwendige Maßnahmen werden davon nicht erfasst.

FeNO

Die FeNO-Werte der Probanden betragen im Schnitt 40,2 ppm (SD 34,9). Bei der Überprüfung der Korrelation dieser Werte mit dem Grad der Hyperreagibilität ergab sich ein schwacher aber signifikanter Zusammenhang mit der PC₂₀ ($r = -0,34$; $p = 0,02$). Für die PD₂₀ konnte keine signifikante Korrelation gefunden werden ($r = -0,23$; $p = 0,11$).

Spirometrie

Von den insgesamt 102 durchgeführten spirometrischen Untersuchungen, je zwei pro Proband, verliefen 89 (= 87,3 %) nach den Kriterien der ATS und ERS zufriedenstellend [14]. Entsprechend dieser Kriterien wurde die Reproduzierbarkeit der FEV₁-Messungen überprüft, zusätzlich erfolgte einer Analyse der Fluss-Volumen-Kurve. Die vor der SDM bestimmten FEV₁-Werte lagen im Mittel bei 102,0 % des anhand der Basisdaten errechneten Sollwertes, bei der APS-SC Methode lag die FEV₁ im Mittel bei 102,7 % des Sollwertes (Einstichproben-t-Test: $t = 0,96$, $p = 0,34$).

Die bei Visite 1 bestimmte Ausgangs-VC betrug im Mittel 97,9 % vom Erwartungswert.

Methacholinprovokation

Alle 52 Provokationsuntersuchungen verliefen technisch zufriedenstellend. 36 Probanden reagierten dabei in beiden Methoden mit einem FEV₁-Abfall ≥ 20 %.

Sechs Probanden reagierten trotz anamnestisch angegebener BHR auf keines der beiden Testverfahren mit einem FEV₁-Abfall ≥ 20 %. Für diese Probanden wurde in der Auswertung die PC₂₀ auf 16,0 mg·ml⁻¹ und die PD₂₀ auf 2,91 mg gesetzt, was jeweils den Maximalwerten der beiden Verfahren entspricht.

Bei zwei Probanden ergab sich eine alleinige positive Reaktion auf die SDM. Die Werte lagen hierbei jedoch mit errechneten 9,96 mg·ml⁻¹ bzw. 12,60 mg·ml⁻¹ im oberen Bereich nach ATS.

Acht Probanden reagierten ausschließlich auf das APS-SC Verfahren. Sechs dieser PD₂₀-Werte lagen jedoch im hohen Bereich bei Werten über 1,00 mg, ein Wert bei 0,90 mg und die niedrigste PD₂₀ bei 0,16 mg.

Bei der SDM betrug die verabreichte Methacholindosis zum Zeitpunkt PC₂₀ im Mittel 0,89 mg (SD 0,84). Bei der APS-SC Methode lag die mittlere Dosis zum Zeitpunkt PD₂₀ bei 0,51 mg (SD 0,50). Somit wurde den Probanden durch das APS-System im Mittel 0,38 mg Methacholin weniger appliziert (Einstichproben-t-Test: $t = 3,079$; $p = 0,004$). Zu Grunde gelegt sind diesen Werten nur die Probanden, die auf beide Testverfahren positiv reagiert haben, da ansonsten der genaue Dosiswert für die PC₂₀ FEV₁-Methode nicht zu berechnen war.

Testsicherheit

Im Allgemeinen tolerierten alle Probanden die durchgeführten Provokationen sehr gut. Zu schweren Abfällen der FEV₁ unter 50 % kam es in lediglich zwei Fällen, wobei die subjektiven Beschwerden immer als erträglich angegeben wurden und keine notfallmäßige Intervention notwendig wurde. Kein einziger Proband musste die Untersuchungen beschwerdebedingt abbrechen oder aufgrund persistierender Atembeschwerden längere Zeit nachbeobachtet

werden. Ebenso bewegten sich die überwachten Parameter Puls und Sauerstoffsättigung zu keinem Zeitpunkt außerhalb der Normbereiche.

Die Beschwerden unter MCP äußerten sich in leichter Tachykardie, Husten sowie erschwelter Atemarbeit. In den meisten Fällen war auskultatorisch ein Giemen über den Lungen zu hören. Nach abgeschlossener Provokation besserten sich die Symptome auf Salbutamol rasch und anhaltend. Keiner der Probanden berichtete über eine Spätreaktion.

Beim Vergleich der FEV₁-Abfälle ergab sich für die SDM ein durchschnittlicher Abfall von 25,6 % (SD 12,7) vom Ausgangswert; der maximale FEV₁-Abfall betrug 58,2 %. Für die APS-SC Methode lag der durchschnittliche FEV₁-Abfall bei 28,7 % (SD 10,8); der maximale FEV₁-Abfall betrug hier 49,7 %.

Korrelation und Kappa-Werte

Berücksichtigt man in der Auswertung alle 52 Probanden, so ergibt sich für die Korrelation der beiden Werte PC₂₀ und PD₂₀ ein Wert von $r = 0,69$ ($p < 0,001$; 95%-Konfidenzintervall 0,50 - 0,81). Die Berechnung der Korrelation nur mit den Werten der Probanden, die auf beide Testverfahren reagiert haben, ergibt dagegen den etwas schwächeren aber dennoch aussagekräftigen Wert von $r = 0,63$ ($p < 0,001$; 95%-Konfidenzintervall 0,38 - 0,80).

Zur Bestimmung der Grenzwerte für die APS-SC Methode analysierten wir die gewonnenen Daten mit Hilfe des „Hahn Prognose-Intervalls“ in Abhängigkeit von den bestehenden PC₂₀-Grenzen nach ATS und prüften die Signifikanz dieser Werte anschließend mit Hilfe des Kappa-Index (siehe Abb. 1 sowie Tabellen 5 und 6). Hierbei kann man als Ergebnis festhalten, dass die allgemein anerkannte PC₂₀-Hyperreagibilitäts-Grenze von 8,00 mg·ml⁻¹ [15] mit einer PD₂₀ von 1,00 mg zusammenfällt. Der zu diesem Wertepaar berechnete Kappa-Index zeigt mit 0,59 eine deutliche und signifikante Übereinstimmung ($p < 0,001$). Für PC₂₀ = 4,00 mg·ml⁻¹ liegt der zugehörige PD₂₀-Wert bei etwa 0,60 mg

(Kappa 0,54; $p < 0,001$), für $PC_{20} = 1,00 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ liegt der zugehörige PD_{20} -Wert bei etwa 0,30 (Kappa 0,46; $p = 0,004$). Eine positive Übereinstimmung der beiden Testverfahren ergibt sich damit in 82,7 %. Die Berechnung der Werte nur mit den Probanden, die für beide Methoden eine positive Reaktion zeigten, ergab keinen relevanten Unterschied.

Abschließend bestätigte der McNemar-Test, dass zwischen den Ergebnissen der beiden Verfahren kein signifikanter Unterschied besteht ($p > 0,51$, Tabelle 6).

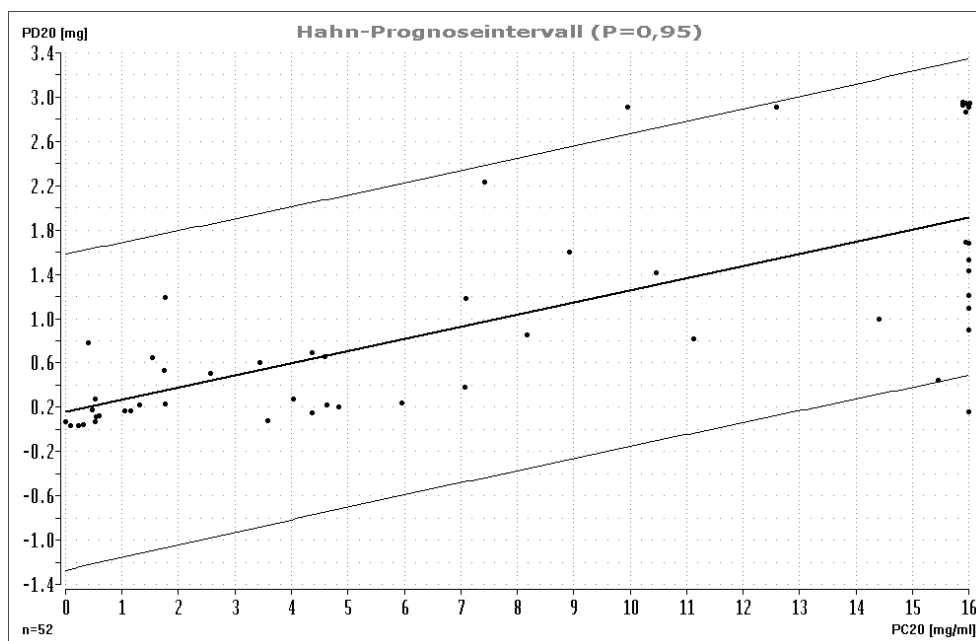


Abb. 1: Hahn Prognose-Intervall

Die dickere Linie in der Mitte zeigt die Korrelationsgerade, die beiden dünneren äußeren Linien kennzeichnen die Bereiche des 95%-Konfidenzintervalls.

Tabelle 5: Hahn Prognose-Intervall und Kappa-Statistik

Schweregrad der BHR	PC ₂₀ * [mg·ml ⁻¹]	PD ₂₀ [mg]	95% KI für PD ₂₀ (nach Hahn)	Kappa (linear)	p-Wert
mittel - schwer	1,00	0,30	-1,16 – 1,69	0,46	0,004
leicht	4,00	0,60	-0,82 – 2,01	0,54	< 0,001
grenzwertig	8,00	1,00	-0,37 – 2,44	0,59	< 0,001
normal	16,00	1,90	0,48 – 3,35	0,56	< 0,001

* nach ATS [15]

Tabelle 6: Reaktionen in den verschiedenen Provokationsmethoden

PC ₂₀ \ PD ₂₀	< 1,00 mg	≥ 1,00 mg	Σ
< 8,00 mg·ml ⁻¹	27	3	30
≥ 8,00 mg·ml ⁻¹	6	16	22
Σ	33	19	n = 52

McNemar: p= 0,51

4. Diskussion

In dieser Studie untersuchten wir an Probanden mit bekannter BHR die Vergleichbarkeit des von der ATS empfohlenen „short five breath dosimeter protocol“ [15] mit einem eigenen, auf dem APS-System der Firma Cardinal Health basierenden Kurzprotokoll und ermittelten hierfür Grenzwerte zur Charakterisierung der BHR.

Bislang existieren zu diesem Thema nur wenige Studien. Drei andere Arbeitsgruppen haben sich in der Vergangenheit ähnlich engagiert und das APS-System mit einer anderen Provokationsmethode verglichen.

Hagmolen of Ten Have et. al [12] verglichen das APS-System mit der Standard-Dosimeter-Methode. Hierbei ergab sich eine Intraclass-Korrelation (ICC) von 0,80; die Methoden sind somit als vergleichbar anzusehen. Zusätzlich wurde die Reproduzierbarkeit der APS-Methode untersucht und man fand eine ICC zwischen erstem und zweitem Test von 0,91 sowie eine deutliche Übereinstimmung nach Bland and Altman, was eine sehr gute Reproduzierbarkeit ausdrückt.

Die Arbeitsgruppe um Praml et. al [16] untersuchte, ob sich beim „European Community Respiratory Health Survey (ECRHS)“ - Testprotokoll die Ergebnisse unterscheiden, wenn einmal ein Mefar MB3-Vernebler und ein anderes Mal das APS-System verwendet wird. Berücksichtigt wurden hierbei sowohl die physikalischen Eigenschaften beider Methoden (Teilchengröße des vernebelten Inhalats) als auch die biologischen Eigenschaften samt Wirkungen auf die Probanden im Testverlauf. Die Auswertung der Provokationsuntersuchungen zeigte signifikant verschiedene Ergebnisse an (McNemar $p = 0,004$). Auffällig war dabei, dass neun Probanden mit Ihrer FEV_1 ausschließlich beim APS-System um mehr als 20 % abfielen, auf das Mefar-Dosimeter allerdings nicht entsprechend reagierten. Wir sehen als Ursache dieser signifikanten

Verschiedenheit der Ergebnisse hauptsächlich den Umstand an, dass bei den APS-Provokationsprotokollen die Konzentration der Methacholinlösung ab der fünften Stufe von $12,5 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ auf $66,7 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ erhöht wurde. Diese Verfünffachung hat wahrscheinlich zu der hohen Anzahl an positiven Ergebnissen beim APS-System dieser Arbeitsgruppe beigetragen.

Ähnlich wie bei Praml et. al [16] schien sich auch bei unserer Studie über den Zeitraum der Untersuchungen abzuzeichnen, dass das dosisbasierte Provokationsverfahren APS-SC eher eine Reaktion hervorruft als die SDM. Dies wurde erhärtet durch die Tatsache, dass acht unserer Probanden ausschließlich auf das APS-SC Verfahren reagierten. Denkbar wäre als Ursache einer stärkeren Reaktion auf die APS-SC Methode, dass die Eingangskonzentration der verwendeten Methacholinlösung Einfluss auf die Reaktion der Probanden hat. Dies erweist sich allerdings bei Betrachtung unserer Ergebnisse (Abb. 2) als höchst unwahrscheinlich: Man erkennt deutlich, dass die Messwerte im frühen Reaktionsbereich eng um die den Mittelwert angegebende durchgehende Linie streuen, was auf eine konzentrationsunabhängige Reaktion hindeutet.

Des Weiteren sprechen die Ergebnisse der bereits angesprochenen Hagmolen of Ten Have - Studie gegen die Annahme eines Zusammenhangs zwischen Reaktionsstärke und der Eingangskonzentration des Methacholins [12]: Auch hier erkennt man einen linearen Zusammenhang zwischen der APS-Methode (Konzentration der Methacholinlösung: $39,2 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$) und einer Standard-Dosimeter-Methode (Konzentrationen ansteigend von $0,076 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ – $78,6 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$).

Aufgrund dieser Tatsachen scheint die Höhe der Methacholinkonzentration in der Provokationslösung nicht die Ursache der vermuteten stärkeren Reaktion bei der APS-SC Methode zu sein.

Ein anderer Erklärungsansatz ist, dass die tiefen Inspirationen bis zur TLC bei der SDM offensichtlich einen bronchoprotektiven Effekt

haben. Neben Cockcroft et. al. [17] und Simard et. al. [18] stellten dies auch Allen et. al. in einer 2005 veröffentlichten Studie fest [19]. Hierbei wurden die von der ATS empfohlenen PC₂₀-FEV₁ Methoden „tidal breathing“ und „five breath dosimeter“ verglichen. Im „tidal breathing“ - Protokoll sollten die Probanden bei der Methacholininhalation lediglich normal um die Atemruhelage ein- und ausatmen, womit tiefe Inspirationen vermieden werden. In zwei dieser drei Studien [17, 19] stellten die Autoren fest, dass die PC₂₀ bei der Dosimeter-Methode um 50 % geringer war und die Patienten so im Schnitt einen Schweregrad herunterklassifiziert wurden, was im Grenzbereich natürlich zu entsprechenden falsch-negativen Ergebnissen führte. Als Ursache hierfür wurde zum einen die deutlich geringere Methacholindosis der Dosimeter-Methode gesehen. Die größere Rolle spielte für die Autoren allerdings der bereits angesprochene bronchoprotektive Effekt, den die tiefe Inspiration bis zur TLC verursacht. Dieser Effekt tritt jedoch nicht gleichmäßig über das gesamte Konzentrationsspektrum auf, sondern ist im PC₂₀-Bereich > 2,0 mg·ml⁻¹ am stärksten und führt daher gerade im Grenzbereich zu vielen falsch-negativen Ergebnissen [17]. Betrachtet man die grafische Auswertung der hier vorliegenden Studie (Abb. 2), so erkennt man ebenfalls eine größere Divergenz der Messwerte im höheren Konzentrationsbereich, was mit den Ergebnissen von Cockcroft et al. [17] übereinstimmt.

Aus all dem bisher Gesagten wird ein großer Vorteil des APS-SC Systems deutlich: Da der Patient hier normale In- und Expirationen tätigt, ohne dabei bis zur TLC einatmen zu müssen, kann der angenommene bronchoprotektive Effekt nicht zum Tragen kommen!

Zu gegenteiligen Ergebnissen in Bezug auf das vorher Gesagte kommen die Studien von Ryan et. al [20] und Wubbel et. al. [21]. Bei letztgenannter Studie wurde zwar auch die rund 50 % geringere Dosisabgabe beim „five breath dosimeter protocol“ festgestellt, allerdings konnten die Autoren zwischen den von der ATS

empfohlenen Methoden (Dosimeter vs. tidal-breathing) keinen Unterschied in Bezug auf die Provokationsergebnisse finden, was den bereits erwähnten bronchoprotektiven Effekt in Frage stellt. Als Ursache für die unterschiedlichen Ergebnisse in Studien nennen Wubbel et. al unter anderem Fehler bei der Herstellung der Methacholinlösungen, Fehler bei der Durchführung der Spirometrie und eine fehlende bzw. fehlerhafte Kalibrierung der Testgeräte sowie probandenassoziierte Ursachen wie beispielsweise die Variabilität der Lungenfunktion von Tag zu Tag.

Wie aus dem Ergebnisteil ersichtlich ist, betrug in der vorliegenden Studie die verabreichte Methacholindosis bis zum Zeitpunkt des 20%-igen FEV₁-Abfalls beim APS-SC System im Mittel 0,34 mg weniger als bei der SDM. Ohne auf genaue Zahlen einzugehen, wurde diese signifikante Verschiedenheit der verabreichten Methacholindosen bis zum Zeitpunkt PD₂₀ FEV₁ bzw. PC₂₀ FEV₁ bereits 1999 von Köbrich et. al in einer Untersuchung festgestellt [23].

Interessant ist in diesem Zusammenhang die Betrachtung der erzeugten optimalen Teilchengrößen (< 5 µm) im vernebelten Inhalat bei beiden in der vorliegenden Studie verwendeten Methoden. Diese liegt laut Praml et. al [16] bei 46,3 % für das Mefar-Dosimeter und bei 49,7 % für das APS-System. Damit sind die erzeugten Teilchengrößen vergleichbar und scheiden als Erklärungsursache für diese Dosisdifferenz aus.

Um zu beleuchten, ob die von uns verwendete Konzentration der Provokationslösung für das Verfahren geeignet ist, sollte man die Studien von Hagmolen of Ten Have [12] und Sierstedt [22] noch einmal für einen Vergleich heranziehen. Hier zeigt sich, dass bei Ten Have unter Verwendung einer hoch konzentrierten Provokationslösung (39,00 mg·ml⁻¹) und einer maximalen Kumulativdosis von etwa 3,50 mg Methacholin viele der Probanden positiv auf den Test reagierten. In der Sierstedt-Studie wurden mit

einer Konzentration von $12,00 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ und kumulativ maximalen $2,00 \text{ mg}$ Methacholin jedoch auch überwiegend positive Testergebnisse (34 von 47 Probanden) erzielt [22]. Dies zeigt uns, dass eine Methacholinkonzentration von $16,00 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$, wie sie in der hier beschriebenen Untersuchung verwendet wurde, für die Provokationslösung beim PD_{20} FEV₁-Verfahren vollkommen ausreichend ist. Sicherlich wäre folglich auch die Verwendung einer Lösung mit beispielsweise nur $8,00 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ denkbar, jedoch würden damit auch die Inhalationszeiten verdoppelt, um im Endeffekt auf die gleiche kumulative Dosis zu kommen wie zuvor. Dadurch würde ein großer klinisch-organisatorischer Vorteil des APS-Systems, nämlich seine Zeitersparnis gegenüber anderen Verfahren, zunichte gemacht.

Korrelation und Kappa

Wir fanden bei unseren Versuchen eine signifikante und gute Korrelation ($r=0,69$; $p < 0,001$) der Werte PC_{20} und PD_{20} . Dies deckt sich mit den Ergebnissen von Sierstedt et. al., der diese beiden Provokationsverfahren in der Vergangenheit bereits untersuchte [22]. Die ATS unterscheidet bei der PC_{20} FEV₁-Provokation nur zwischen vier Schweregraden. Wir haben uns aufgrund eines extrem früh reagierenden Probanden ($\text{PC}_{20} = 0,004 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$) dazu entschlossen, den untersten Dosisbereich (nach ATS „mittelschwer bis schwer“) nochmals zu unterteilen und von $0,01 - 0,10 \text{ mg}$ Methacholin eine schwere BHR anzunehmen, während wir von $0,10 - 0,30 \text{ mg}$ von einer mittelschweren BHR sprechen; dies erschien uns abseits der errechneten Ergebnisse aufgrund klinischer Betrachtung sinnvoll. Somit ergibt sich abschließend die folgende Bereichseinteilung (Tabelle 7):











Tabelle 7: Grenzwerte für APS-SC Provokation ($PD_{20} FEV_1$)

PD_{20} [mg]	Interpretation der BHR	Entspricht PC_{20} -Grenze [$mg \cdot ml^{-1}$]
0,01 – 0,10	„schwer“	< 1,00
0,10 – 0,30	„mittel“	
0,30 – 0,60	„leicht“	1,00 – 4,00
0,60 – 1,00	„grenzwertig“	4,00 – 8,00
> 1,00	„normal“	> 8,00

Für unsere Ergebnisse erstellten wir im Hinblick auf den Cut-off Wert für verschiedene Konzentrationspunkte die Übereinstimmung und den Kappa-Wert der beiden Verfahren (siehe Tabelle 5). Wir stellten fest, dass am Konzentrationspunkt $8 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ -entsprechend $1,0 \text{ mg}$ im PD_{20} -Verfahren- mit 82,69 % und einem Kappa von 0,59 ($p < 0,001$) die höchste Übereinstimmung der Methoden liegt. Zu höheren und niedrigeren Konzentrationen hin fallen beide Werte wieder ab.

Sierstedt et. al [22] stellten in ihrer Untersuchung fest, dass sich bei Verdopplung der PC_{20} auch die PD_{20} verdoppelt. Wir konnten in unseren Ergebnissen einen ähnlichen Zusammenhang beobachten (Tabelle 8): Mit jeder Doppelung der PC_{20} -Stufe kommt es zu einer Doppelung des Unterschiedes der PD_{20} -Stufen. Diese Beobachtung kann als zusätzliches Indiz für den linearen Zusammenhang der beiden Methoden $PC_{20} FEV_1$ und $PD_{20} FEV_1$ gewertet werden!

Tabelle 8: Differenzen zwischen den Provokationsstufen

PC ₂₀ -Grenze [mg·ml ⁻¹]	Δ PC ₂₀ -Stufe	PD ₂₀ -Grenze [mg]	Δ PD ₂₀ -Stufe
0,5	 = 0,5	0,25	 = 0,05
1,0	 = 1,0	0,30	 = 0,10
2,0	 = 2,0	0,40	 = 0,20
4,0	 = 4,0	0,60	 = 0,40
8,0	 = 8,0	1,00	 = 0,90
16,0		1,90	

Neben der Vergleichbarkeit der Ergebnisse bei beiden Methoden sollten im Rahmen dieser Studie auch die klinische Sicherheit und Anwendbarkeit der Methoden untersucht und verglichen werden.

Allein der durchschnittliche Zeitvorteil der APS-SC Methode von etwa acht Minuten dürfte sich im Alltag einer Lungenfunktions- bzw. Asthmaambulanz sowohl auf Arzt- als auch Patientenseite positiv bemerkbar machen. Damit liegen wir ungefähr im selben Zeitbereich wie die Arbeitsgruppe um Köbrich et al. [23], welche für die PC₂₀ FEV₁-Methode im Schnitt 30,5 Minuten und für die PD₂₀ FEV₁-Methode im Schnitt 16,8 Minuten benötigte.

Zum Teil ist die Zeitersparnis in unserer Untersuchung darin begründet, dass die APS-SC Methode nur eine Provokationslösung mit fester Konzentration (in unserem Fall 16,00 mg·ml⁻¹) über den gesamten Provokationsverlauf verwendet. Dadurch entfällt ein arbeitsaufwändiges Austauschen der Lösungen, wie es die SDM erfordert. Dies führt gleichzeitig zu einer geringeren Fehleranfälligkeit des APS-SC Verfahrens, denn zum einen bringt die Herstellung der verschiedenen Provokationslösungen für die SDM schon eine Abweichung von +/- 0,5 pro Verdünnungsstufe, zum anderen besteht auch eine gewisse Verwechslungsgefahr beim Befüllen des Verneblers.

Auch für den Patienten ist die Untersuchung mit dem APS-SC Verfahren einfacher und weniger belastend. Bei der Inhalation der Provokationslösung reicht hier die normale Ruheatmung aus, tiefe Inspirationen mit längerem Luftanhalten entfallen. Neben unserem subjektiven Eindruck und den Berichten der Probanden wird diese Aussage auch durch die Ergebnisse von Hagmolen of Ten Have et. al [10] gestützt, die in ihrer Studie an Kindern ebenfalls einen Zeitvorteil für das APS-System sahen und gleichzeitig von einer geringeren Belastung der kleinen Patienten bei dieser Methode sprachen.

FeNO

Lediglich am Rande betrachteten wir den bei der ersten Visite ermittelten FeNO-Wert im Bezug auf die Ergebnisse der MCP und die PD₂₀- bzw. PC₂₀-Werte. Einen Zusammenhang zwischen gemessenem FeNO und der PC₂₀ konnten wir schwach nachweisen ($r = -0,34$; $p = 0,02$). Dies deckt sich mit den Ergebnissen von Strunk et. al [24], die in ihrer Studie eine ebenfalls schwache Korrelation dieser Parameter von $r = -0,31$ ($p = 0,05$) ermittelten. Ebenso ermittelte Jatakanon et. al. [25] einen Zusammenhang zwischen PC₂₀ und FeNO, der mit $r = -0,64$ ($p < 0,001$) deutlicher war als in unserem Fall. Beide zuletzt genannten Studien verwendeten interessanterweise zur Provokation die „tidal breathing method“. Allerdings gibt es auch einige Studien, die keine signifikante Korrelation zwischen FeNO und der PC₂₀ nachweisen konnten [26,27], so dass die Frage eines Zusammenhanges dieser beiden Parameter letztlich nicht eindeutig zu klären ist.

Für die PD₂₀ FEV₁-Methode mit dem APS-System konnten wir keine signifikante Korrelation finden ($r = -0,23$; $p = 0,11$).

5. Zusammenfassung

Das Ziel dieser Studie war die Etablierung von Grenzwerten für die bronchiale Methacholinprovokation durch Vergleich des Aerosol Provokation Systems (APS-SC) mit einem ATS Standard (five-breath dosimeter method, SDM).

Unsere Ergebnisse zeigen, dass die APS-SC Methode unter Verwendung eines Kurzprotokolls und des Systems der Firma Cardinal Health eine sichere, schnelle und verlässliche Methode der bronchialen MCP darstellt.

Im Schnitt erspart dieses Verfahren acht Minuten gegenüber der klassischen SDM gemäß dem von der ATS empfohlenen „short five breath dosimeter protocol“. Zudem entfallen in der Vorbereitung das Herstellen und die Lagerung mehrerer unterschiedlich konzentrierter Methacholinlösungen; während der Untersuchung existiert daher auch kein Verwechslungsrisiko. Der Test selbst ist für Untersucher und Patient weniger belastend.

Die Verwendung einer Konzentration von $16,00 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ für die Methacholin-Testlösung stellt einen guten Mittelweg zwischen akzeptablen Inhalationszeiten innerhalb der Stufen und einer nicht zu aggressiven Konzentration dar, mit der vom Anfang eines Tests bis zu seinem Ende gearbeitet werden kann.

Zwischen den Kategorien der BHR für die SDM- und die APS-SC Methode besteht ein enger Zusammenhang. Als Grenzwert für die Annahme einer BHR – definiert als diejenige Methacholindosis bzw. -konzentration, die zu einem Abfall der FEV_1 um 20 % vom Ausgangswert führt – stimmt der bestehende und von der ATS publizierte Grenzwert von $8,00 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ am besten mit einer Dosis von 1,00 mg Methacholin in der APS-SC Methode überein.

Tabelle 7: Grenzwerte für APS-SC Provokation ($PD_{20} FEV_1$)

PD₂₀ [mg]	Interpretation der BHR	Entspricht PC₂₀ -Grenze [mg · ml⁻¹]
0,01 – 0,10	„schwer“	< 1,00
0,10 – 0,30	„mittel“	
0,30 – 0,60	„leicht“	1,00 – 4,00
0,60 – 1,00	„grenzwertig“	4,00 – 8,00
> 1,00	„normal“	> 8,00

Diese Ergebnisse werden sicherlich sowohl für die tägliche Durchführung der bronchialen Provokationsuntersuchungen in Klinik und Praxis als auch für Studien wertvoll und hilfreich sein.

6. Summary

The aim of this study was the establishment of limits for bronchial challenge with methacholine comparing the aerosol provocation system (APS-SC) to an ATS recommended standard, the five-breath dosimeter method (SDM).

Our results show that the APS-SC method based on a short-protocoll using the Cardinal Health system is a fast and safe method of bronchial challenge with methacholine.

In average it saves eight minutes in contrast to the ATS-recommended „short five breath dosimeter protocol“. Additionally there is no need for preparation and storage of several different solutions with increasing concentrations of methacholine. Hence, there is no risc of mixing up these solutions during the challenge. The challenge itself is less straining for both the patient and the investigator.

By using a methacholine solution with a concentration of $16,00 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$, the challenge is not too aggressive from the beginning to the end and inhalation times remain still adequate.

There is a strong relationship between the categories of BHR in both methods. For the cut-off-value for BHR, defined as the dose or concentration of methacholine inducing a 20%-fall in FEV_1 , the ATS recommended concentraion of $8,00 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ in the SDM corresponds with a dose of 1,00 mg methacholine for the APS-SC Method.


Table 7: Limits for APS-SC provocation ($PD_{20} FEV_1$)

PD₂₀ [mg]	interpretation of BHR	corresponds with PC₂₀ - limit [mg · ml⁻¹]
0,01 – 0,10	„severe“	< 1,00
0,10 – 0,30	„moderate“	
0,30 – 0,60	„mild“	1,00 – 4,00
0,60 – 1,00	„borderline“	4,00 – 8,00
> 1,00	„normal“	> 8,00

These results will certainly be valuable and helpful for the daily performance of bronchial methacholine challenges in clinical practice and clinical research.

7. Anhang

7.1 Ethikvotum



Fachbereich Medizin der
Johann Wolfgang Goethe-Universität
Frankfurt am Main

Universitätsklinikum - Theodor-Stern-Kal 7 - 60580 Frankfurt

Herr
Prof. Dr. Stefan Zielen
Klinik für Kinder- und Jugendmedizin I
ZKI

EINGEGANGEN

12. FEB. 2007

Prof. Zielen
Abt. Allergologie/Pneumologie

Ethik-Kommission
Der Vorsitzende

Bearbeiterin: Dr. Astrid Giesler
Tel.: 069/63 01-45 97
Fax: 069/63 01-83434
E-Mail: Astrid.Giesler@kgu.de

Donnerstag, 8. Februar 2007

VOTUM

Geschäfts-Nr.: 335/06
BITTE STETS ANGEBEN!

**Vergleich zweier Kurzprotokolle der bronchialen Methacholin
Provokation, PC 20 FEV1 versus PD 20 FEV1**

Sehr geehrter Herr Professor Zielen,

die Ethik-Kommission des Fachbereichs Medizin der J. W. Goethe-Universität Frankfurt am Main hat sich am 15.01.2007 mit Ihrem vorgenannten Antrag befasst und um einige Änderungen und Ergänzungen in der Patienteninformation gebeten.

Nachdem Sie mit Schreiben vom 31.01.2007 eine entsprechend geänderte Fassung der Patienteninformation vorgelegt haben, kann ich Ihnen mitteilen, dass nunmehr keine berufsrechtlichen und berufsethischen Bedenken gegen die Durchführung der oben genannten Studie bestehen.

Wir bewerten die Studie zustimmend.

Über alle schwerwiegenden oder unerwarteten unerwünschten Ereignisse, die während der Studie auftreten und die Sicherheit der Studienteilnehmer oder die Durchführung der Studie beeinträchtigen könnten, muss der Vorsitzende der Ethik-Kommission unterrichtet werden. Eine Information über den Abschluss der Studie wird erbeten.

Geschäftsführung der
Ethik-Kommission
Tel.: 069/63 01-4597

Sekretariat der
Ethik-Kommission
Tel.: 069/63 01-7233

<http://ethikkommission.klinik.uni-frankfurt.de>

335-06a.doc

Gemeinsam mehr wissen, forschen und heilen

Postfach: Universitätsklinikum 60580 Frankfurt Straßenseite 12,15,21 www.klinik.uni-frankfurt.de

Nachfolgend sind die Mitglieder der Ethik-Kommission aufgeführt, die in der Sitzung am 15.01.2007 die o. g. Studie beurteilt haben:

Vorsitzender: Herr Prof. Dr. med. S. Harder (Klinische Pharmakologie)
Herr Prof. Dr. med. L. Bergmann (Innere Medizin)
Herr Prof. Dr. med. H. Bratzke (Rechtsmedizin)
Herr Prof. Dr. med. J. Lötsch (Klinische Pharmakologie)
Herr Prof. Dr. med. T. Schmitz-Rixen (Chirurgie)
Herr C. Huber (Ass. Jur.)
Herr Prof. Dr. med. U. Ziemann (Neurologie)

Mit freundlichen Grüßen

SW

Prof. Dr. med. S. Harder
Vorsitzender

Die Stellungnahme der Ethik-Kommission erfolgte aufgrund folgender eingereichter Unterlagen:

Dokument:	Version/ Nr.:	datiert vom:
Protokoll	Version 1	24.11.2006
Patienteninformation	Version 2	24.01.2007
Eltern- u. Jugendinformation	Version 1	29.11.2006
Einverständniserklärung (Patient > 18 J.)	Version 1	29.11.2006
Einverständniserklärung (Patient < 18 J.)	Version 1	29.11.2006

7.2 Auflistung der Probandenparameter

Prob. Nr.	Geschl.	Alter [Jahre]	SDM			APS-SC		FEV1 vor PC 20 [% Soll]	FEV1 vor PD 20 [% Soll]	VC [% Soll]	eNO [ppb]	Größe [cm]	Gewicht [kg]	BMI
			PC 20 [mg/ml]	PCD 20 [mg]	Dauer [min]	PD20 [mg]	Dauer [min]							
1	w	30	0,47	0,06	31	0,18	25	101,80	94,40	93,0	26,0	62,0	18,5	
2	w	23	7,09	1,13	39	1,18	19	88,20	102,30	91,7	16,0	51,0	19,9	
3	w	23	16,00	0,00	32	2,91	29	103,60	101,00	95,0	5,0	67,0	24,0	
4	m	21	9,96	2,90	31	2,91	23	98,50	95,40	80,1	14,0	78,5	22,5	
5	w	24	16,00	0,00	28	1,09	22	86,80	88,30	81,1	19,0	48,0	18,9	
6	m	26	4,63	1,30	26	0,22	20	98,90	97,00	86,0	25,0	84,0	24,8	
7	w	27	16,00	0,00	25	1,21	20	97,00	95,00	88,3	58,0	62,0	21,0	
8	w	41	7,08	1,06	33	0,38	25	108,50	107,60	93,4	47,0	63,0	21,8	
9	w	24	4,03	0,89	33	0,27	19	114,00	114,80	121,0	16,0	64,0	20,9	
10	m	24	0,00400	0,00120	10	0,07	14	96,80	88,30	89,7	92,0	76,0	23,5	
11	m	41	16,00	0,00	35	2,91	26	130,70	128,40	114,9	46,0	70,0	21,6	
12	m	23	16,00	0,00	27	2,91	27	105,70	100,00	83,5	19,0	63,0	20,8	
13	m	44	16,00	0,00	30	2,91	21	117,80	123,90	103,6	18,0	73,0	26,2	
15	w	23	0,53	0,12	22	0,27	15	88,40	83,40	92,2	13,0	65,0	22,5	
16	m	22	16,00	0,00	26	2,91	20	126,40	127,80	140	72,0	88,0	25,2	
17	w	17	1,75	0,26	37	0,53	32	111,30	104,50	87,4	43,0	43,0	15,8	
18	m	17	16,00	0,00	30	1,68	26	118,40	110,30	103,9	14,0	62,0	19,6	
19	m	22	14,41	2,10	38	1,00	22	84,20	83,10	80,9	18,0	72,0	23,2	
20	w	29	4,36	0,62	35	0,69	22	107,30	100,80	101,3	38,0	57,0	19,0	
21	w	22	16,00	0,00	29	2,91	30	84,20	85,10	82,3	18,0	50,0	18,6	
22	w	26	1,31	0,32	30	0,22	21	98,60	108,00	116,9	17,0	68,0	20,1	
23	w	31	1,76	0,42	26	1,19	26	93,20	90,30	90,2	148,0	65,0	21,5	
24	w	23	16,00	0,00	30	1,53	28	104,80	102,30	100,2	8,0	60,0	20,8	
25	w	19	16,00	0,00	35	1,43	32	100,90	102,90	85,9	13,0	58,0	18,5	
26	w	14	4,84	1,12	49	0,20	25	111,10	115,90	93,5	11,0	54,0	17,8	
27	m	22	1,53	0,14	26	0,65	26	83,00	80,20	80,2	113,0	72,0	21,0	

Prob. Nr.	Geschl.	Alter [Jahre]	SDM		APS-SC		FEV1 vor PC 20 [% Soll]	FEV1 vor PD 20 [% Soll]	VC [% Soll]	eNO [ppb]	Größe [cm]	Gewicht [kg]	BMI
			PC 20 [mg/ml]	PCD 20 [mg]	Dauer [min]	PD 20 [mg]							
28	w	25	1,05	0,37	34	0,17	17	95,30	97,50	99,0	98,0	54,0	20,8
29	m	23	12,60	2,65	35	2,91	25	109,60	109,10	102,7	43,0	82,0	22,0
30	w	28	8,17	1,37	33	0,85	28	90,20	91,10	80,0	66,0	45,0	18,5
31	m	18	5,95	1,53	43	0,24	22	93,50	90,60	91,8	79,5	75,0	21,9
33	w	20	0,55	0,14	24	0,11	13	81,20	86,20	82,7	120,0	56,0	19,4
34	w	19	3,44	0,94	25	0,60	34	105,20	106,50	100,7	6,0	70,0	22,3
35	w	20	1,76	0,39	24	0,23	20	101,80	106,80	94,8	135,0	65,0	20,5
36	m	26	10,46	2,87	28	1,41	26	88,30	85,90	83,8	29,0	95,0	27,5
37	m	23	8,92	2,90	35	1,60	28	117,20	120,90	112,9	31,0	75,0	22,6
38	m	23	3,58	1,04	28	0,08	14	114,90	116,90	108,5	63,0	83,0	26,2
39	m	28	7,42	2,12	32	2,23	25	109,50	115,00	104,9	9,0	98,0	30,2
40	w	27	1,15	0,18	33	0,17	25	96,80	80,50	89,9	13,0	52,0	20,8
41	w	23	4,59	0,52	39	0,66	26	96,20	96,40	81,5	32,0	49,0	18,0
42	w	23	4,36	0,60	31	0,15	25	114,50	114,60	117,9	29,0	66,0	23,1
43	w	25	0,52	0,08	23	0,07	12	110,40	105,20	107,5	23,0	53,5	19,9
44	w	26	16,00	0,00	25	0,16	17	142,90	131,10	138,1	63,0	88,0	27,8
45	w	28	16,00	0,00	24	0,90	22	108,50	112,70	112,2	10,0	75,0	27,5
46	m	35	15,46	2,53	30	0,44	15	87,40	82,50	88,6	22,0	110,0	30,5
47	m	21	16,00	0,00	35	1,67	28	123,30	121,80	107,5	18,0	81,0	22,7
48	m	25	0,41	0,05	23	0,78	22	82,00	82,10	87,2	10,0	75,0	24,2
49	m	25	2,57	0,68	32	0,51	35	103,60	105,60	90,3	42,0	70,0	21,6
50	w	29	11,12	2,01	38	0,82	30	108,50	112,00	108,3	25,2	60,0	22,0
51	w	18	0,23	ND	11	0,03	5	94,00	95,00	97,0	41,0	47,0	17,3
53	w	25	0,24	ND	9	0,02	8	98,50	83,70	110,0	ND	60,0	23,4
54	w	20	0,60	0,19	17	0,12	7	99,90	105,80	116,0	73,5	53,0	20,7
55	m	29	0,08	0,12	12	0,03	5	108,60	115,10	115,0	ND	86,0	24,9

7.3 Patienteninformation

Patienteninformation

Titel der klinischen Prüfung

**Vergleich zweier Kurzprotokolle der bronchialen Methacholin
Provokation, PC 20 FEV1 versus PD 20 FEV1**

Sehr geehrter Patient,

diese Aufklärung enthält Informationen über Ziel und Sinn der Studie sowie Aussagen zu Ihrer Rolle dabei. Bitte lesen Sie diesen Text aufmerksam durch und nehmen Sie sich für Ihre Entscheidung ausreichend Zeit. Stellen Sie Ihrem, für die Studie verantwortlichen Arzt alle Fragen, die Sie möglicherweise zum Inhalt des Textes bzw. zur Studie haben. Ihr Studienarzt wird Ihnen alle noch offenen Fragen beantworten.

Zweck der klinischen Prüfung

Sie werden als Patient mit bronchialer Überempfindlichkeit freiwillig als Proband an einer klinischen Prüfung teilnehmen. Der Zweck dieser klinischen Prüfung ist es, zwei Kurzprotokolle der bronchialen Provokation mit Methacholin miteinander zu vergleichen.

Hintergrund der Fragestellung ist folgender:

Es existiert ein international anerkanntes Kurzprotokoll für die bronchiale Provokation mit Methacholin. Dabei wird die Konzentration des Methacholins in 5 Stufen gesteigert. Eine weitere Möglichkeit für die bronchiale Provokation ist die Steigerung der Dosis des Methacholin. Für diese Methode gibt es moderne Inhalationsgeräte, die eine genau vorgegebene Menge in die Einatemluft des Patienten vernebeln. Dadurch wird die Untersuchung schneller und sicherer. Sie kann damit besser während der Routinebehandlung von Patienten mit Atemwegserkrankungen eingesetzt werden. Wir wollen die neue Methode mit der etablierten vergleichen.

Freiwilligkeit

Ihre Teilnahme ist freiwillig. Sie können jederzeit, auch ohne Angaben von Gründen, Ihre Teilnahmebereitschaft widerrufen, ohne dass Ihnen dadurch irgendwelche Nachteile für Ihre weitere ärztliche Versorgung entstehen. **Auch die Prüfarzte sind zur jeder Zeit ermächtigt, die Teilnahme eines Probanden aus bestimmten Gründen zu beenden.**

Ablauf der klinischen Prüfung

An dieser klinischen Prüfung werden insgesamt 48 Personen teilnehmen. Ihre Teilnahme an dieser klinischen Prüfung wird voraussichtlich 1,5 Stunden (2 Visiten im Prüfzentrum, Visite 1: 50 Minuten, Visite 2: 40 Minuten) dauern.

Vor Aufnahme in diese klinische Prüfung werden Fragen zu Ihrer Gesundheit erhoben. Im Anschluss werden Sie durch Zufall einer der beiden Provokationsmethoden zugeteilt. Hierzu inhalieren Sie mit einer Lösung, die einen bronchialen Reizstoff enthält (Methacholin). Diese Inhalation wird in steigender Konzentration oder Dosierung

durchgeführt und führt zu einer leichten Verkrampfung Ihrer Atemwege. Die Inhalation wird solange fortgesetzt bis die bronchiale Reizschwelle bestimmt ist, oder bis die höchste Inhalationsstufe erreicht ist. Am Ende einer jeden Untersuchung bekommen Sie von Ihrem Arzt ein Medikament (Salbutamol Dosier-Aerosol, 1 Hub), welches diesen Effekt rückgängig macht.

Die zweite Messung der bronchialen Reizempfindlichkeit erfolgt zu einem zweiten Termin im Abstand von mindestens 48 Stunden. Erneut wird die bronchiale Reizschwelle bestimmt. Am Ende der Untersuchung bekommen Sie von Ihrem Arzt ein Medikament (Salbutamol Dosier-Aerosol, 1 Hub), welches diesen Effekt rückgängig macht. Der Zeitaufwand für die 2. Visite liegt insgesamt bei ca. 40 Minuten

Mögliche Risiken, Beschwerden und Begleiterscheinungen

Im Rahmen der Messung der bronchialen Reizempfindlichkeit kann es zu einer Atemwegsobstruktion bis zur Entwicklung von Atemnot kommen. Sie werden in jedem Fall aufgefordert ein β -2 Mimetikum zur Erweiterung der Atemwege zu inhalieren.

Möglicher Nutzen aus Ihrer Teilnahme an der klinischen Prüfung

Sie werden durch Ihre Teilnahme an dieser klinischen Prüfung keinen direkten Nutzen für Ihre Gesundheit haben.

Die Ergebnisse dieser klinischen Prüfung können aber dazu beitragen, dass für Patienten mit Allergien und Asthma bronchiale ein im Alltag einer Praxis anwendbares Provokationsmodell etabliert wird.

Prüfarzte: Prof. Dr. S. Zielen, Dr. O. Eickmeier und Dr. M. Rosewich
Klinik I Pneumologie und Allergologie
Zentrum für Kinderheilkunde und Jugendmedizin
Universitätsklinikum Frankfurt
email: Stefan.Zielen@kgu.de
Tel: 069 / 6301-5732, -83063 Fax: 6301-83349

7.4 Einverständniserklärung

Einverständniserklärung

Vergleich zweier Kurzprotokolle der bronchialen Methacholin Provokation, PC 20 FEV1 versus PD 20 FEV1

Name des Probanden in Druckbuchstaben: _____

Patienten Nr.: _____

Ich erkläre mich bereit, dass ich, bzw. mein Kind, an der klinischen Prüfung teilnimmt.

Ich bin von Herrn/Frau (Dr. med.) _____ ausführlich und verständlich über die möglichen Belastungen und Risiken sowie über Wesen, Bedeutung und Tragweite der Studie, sowie die sich für mich daraus ergebenden Anforderungen aufgeklärt worden. Ich habe darüber hinaus den Text der Aufklärung und dieser Einwilligungserklärung gelesen und verstanden. Aufgetretene Fragen wurden mir vom Prüfarzt verständlich und ausreichend beantwortet. Ich hatte ausreichend Zeit, Fragen zu stellen und mich zu entscheiden.

Ich werde den ärztlichen Anforderungen, die für die Durchführung der klinischen Prüfung erforderlich sind, Folge leisten, behalte mir jedoch das Recht vor, meine freiwillige Mitwirkung, bzw. die meines Kindes, jederzeit zu beenden, ohne dass mir daraus Nachteile entstehen.

Ich bin mit der Aufzeichnung der im Rahmen der Studie an mir, bzw. an meinem Kind, erhobenen Krankheitsdaten und ihrer anonymisierten Verwendung, z. B. für Veröffentlichungen einverstanden.

Eine Kopie der Information und der Einwilligungserklärung habe ich erhalten.
Das Original verbleibt beim Prüfarzt.

(Datum und Unterschrift des Probanden)

(ggf. Datum und Unterschrift der Erziehungsberechtigten)

(Datum und Unterschrift des aufklärenden Arztes)

7.5 Patientenfragebogen

Fragebogen zur Studie

Vergleich zweier Kurzprotokolle der bronchialen Methacholin Provokation, PC
20 FEV1 versus PD 20 FEV1

Fragen zur Gesundheit

Im Rahmen unserer Studie würden wir Sie bitten, folgenden Fragebogen auszufüllen. Es wird etwa fünf bis zehn Minuten in Anspruch nehmen. Ihre Informationen werden selbstverständlich vertraulich behandelt und nicht weitergegeben.

Geburtsdatum: _____ Initialen: _____ Probanden-Nr.: _____

1. Ihr Geschlecht männlich
weiblich

2. Wie alt sind Sie? _____ Jahre

3. Wie groß sind Sie? _____ cm

4. Welches Gewicht haben Sie? _____ kg

5. Welchen Familienstand haben Sie?
 - verheiratet, mit Ehepartner zusammen lebend
 - verheiratet, getrennt lebend
 - ledig, allein lebend
 - geschieden
 - verwitwet
 - mit Lebenspartner zusammen lebend

6. Welchen höchsten Bildungsabschluss haben Sie?
 - Grundschule
 - Volksschule / Hauptschule / Mittlere Reife
 - Abitur / Fachhochschulreife
 - Universitätsausbildung, Fachhochschule oder ähnliches
 - Keine abgeschlossene Schulausbildung
 - Weiß nicht

7. Welche der folgenden Situationen beschreibt Ihre gegenwärtige Erwerbssituation am besten?

- Vollzeit beschäftigt
- Teilzeit beschäftigt
- Student / Schüler
- Rentner
- Arbeitslos oder entlassen
- Verantwortlich für Haushalt und / oder Pflege eines Haushaltsmitglieds
- Wehrdienst oder Zivildienst
- anders

8. Haben Sie zur Zeit, oder hatten Sie während der letzten Pollensaison (Mai, Juni, Juli) eine dieser Krankheiten oder Symptome?

Falls ja, kreuzen Sie bitte das entsprechende Kästchen an und geben Sie – falls die Krankheit von einem Arzt diagnostiziert wurde oder Sie verschreibungspflichtige Medikamente erhalten haben – dies ebenfalls an.

	ärztlich diagnostiziert?	Verschreibungs- pflichtige Medikamente?
<input type="checkbox"/> Bluthochdruck	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> Herzinfarkt	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> Schlaganfall	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> Asthma	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> Chronische Bronchitis, Lungemphysem	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> Heuschnupfen	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> Arthrose, Arthritis, Rheuma	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> Angstzustände und Depression	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> Migräne	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> Hauterkrankung	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> Hautinfektion	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> Hautausschlag (Ekzem) oder Hautallergie	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> Andere Allergien	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> Erkältung / Schnupfen	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> Halsschmerzen	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> Akute Bronchitis	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> Bronchiolitis	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> Lungentzündung	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> Krupp	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> Ohreninfektion	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> Sinusitis / Nebenhöhlenentzündung	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> Grippe (Influenza)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> Pfeifende Atemgeräusche	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> Problem mit Niesen, laufender oder verstopfter Nase / Rhinitis (wenn keine Erkältungskrankheiten oder Grippe)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> Müdigkeit	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> Kopfschmerzen	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> Wässrige oder entzündete Augen	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

9. Wie viele akute Atemwegserkrankungen (Erkältung / Schnupfen, Halsschmerzen, Bronchitis oder Bronchiolitis, Sinusitis / Nebenhöhlenentzündung, Rhinitis, Lungenentzündung, Ohrentzündung, Krupp) **hatten Sie insgesamt in der letzten Pollensaison?**

- keine
- eine akute Atemwegserkrankung
- zwei akute Atemwegserkrankungen
- drei oder mehr akute Atemwegserkrankungen

10. Wie viele Asthma Anfälle hatten Sie insgesamt während der letzten Pollensaison?

- keine
- einen Asthmaanfall
- zwei Asthmaanfalle
- drei oder mehr Asthmaanfalle

11. Hatten Sie während der letzten Pollensaison pfeifende Atemgeräusche?

Bitte markieren Sie alle zutreffenden Antworten.

- Ja, bei körperlicher Anstrengung
- Ja, bei einer Erkältung
- Ja, ohne Erkältung
- Ja, nachts
- Ja, bei Aufenthalt in kalter Luft
- Keine pfeifenden Atemgeräusche

12. Hatten Sie während der letzten Pollensaison einen trockenen Reizhusten?

Bitte markieren Sie alle zutreffenden Antworten.

- Ja, bei körperlicher Anstrengung
- Ja, bei einer Erkältung
- Ja, ohne Erkältung
- Ja, nachts
- Ja, bei Aufenthalt in kalter Luft
- Kein trockener Reizhusten

13. Lösen bestimmte Stoffe bei Ihnen Beschwerden aus?

Bitte markieren Sie alle zutreffenden Antworten.

- bestimmte Nahrungsmittel
- Pollen
- Hausstaub / Milbe
- Haustiere / Tierkontakte
- Andere (welche?): _____
- Keine Reaktion

14. Wie viele Tage waren Sie während der letzten Pollensaison krank (Unfälle und Verletzungen ausgeschlossen)?

Ca. _____ Tage (falls „0“ bitte zu Seite 5)

15. Falls Sie krank waren: Haben Sie in dieser Zeit einen oder mehrere Tage bei der Arbeit, in der Schule oder Universität gefehlt?

- Ja
 Nein (*bitte zu Frage 17*)

16. Wie viele Tage haben Sie aufgrund von Krankheit während der letzten Pollensaison gefehlt, ...

- ... in der Schule / Universität _____ Fehltage
 ... bei der Arbeit / Ausbildung _____ Fehltage

17. Wie häufig waren Sie während der letzten Pollensaison beim Arzt?

Zahl der Arztbesuche: ca. _____ Mal

- Ich war nicht beim Arzt.
 Ich kann das nicht abschätzen.

18. Wie viele Tage waren Sie während der letzten Pollensaison im Krankenhaus?

Zahl der Krankenhausbesuche: ca. _____ Tage

- Ich war nicht im Krankenhaus.
 Ich kann das nicht abschätzen.

Wir würden gerne wissen, inwieweit Ihre Nasen- oder Augenbeschwerden Ihr Leben in der letzten Pollensaison (Mai, Juni, Juli) beeinträchtigt haben.

Bitte kreuzen Sie in den nächsten vier Fragen (19-22) jeweils das Kästchen an, das am besten beschreibt, wie sehr Sie in der diesjährigen Pollensaison durch Ihre Nasen- oder Augenbeschwerden in den jeweiligen Tätigkeiten beeinträchtigt waren.

19. Aktivitäten

	Gar nicht	kaum	etwas	mäßig	ziemlich	sehr	extrem	Tätigkeit nicht ausgeübt
Tätigkeiten mit anderen Menschen (z.B. reden, mit Haustieren/Kindern spielen, Verwandte/Freunde besuchen)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Mittelschwere Tätigkeiten (z.B. Spazieren gehen, Haushalt, Gartenarbeit, Einkaufen, Treppen steigen, Fahrrad fahren)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Anstrengende Tätigkeiten (z.B. sich beeilen, Fitness Training, Treppen hochlaufen, Sport treiben)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

20. Schlaf

	Gar nicht	kaum	etwas	mäßig	ziemlich	sehr	extrem
Einschlafschwierigkeiten	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Aufwachen während der Nacht	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Mangel an gutem Schlaf	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

21. Nase

	Gar nicht	kaum	etwas	mäßig	ziemlich	sehr	extrem
Verstopfte Nase	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Laufende Nase	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Niesen	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Juckende Nase	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

22. Augen

	Gar nicht	kaum	etwas	mäßig	ziemlich	sehr	extrem
Juckende Augen	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Tränende Augen	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Wunde Augen	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Geschwollene Augen	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

23. Medikamente

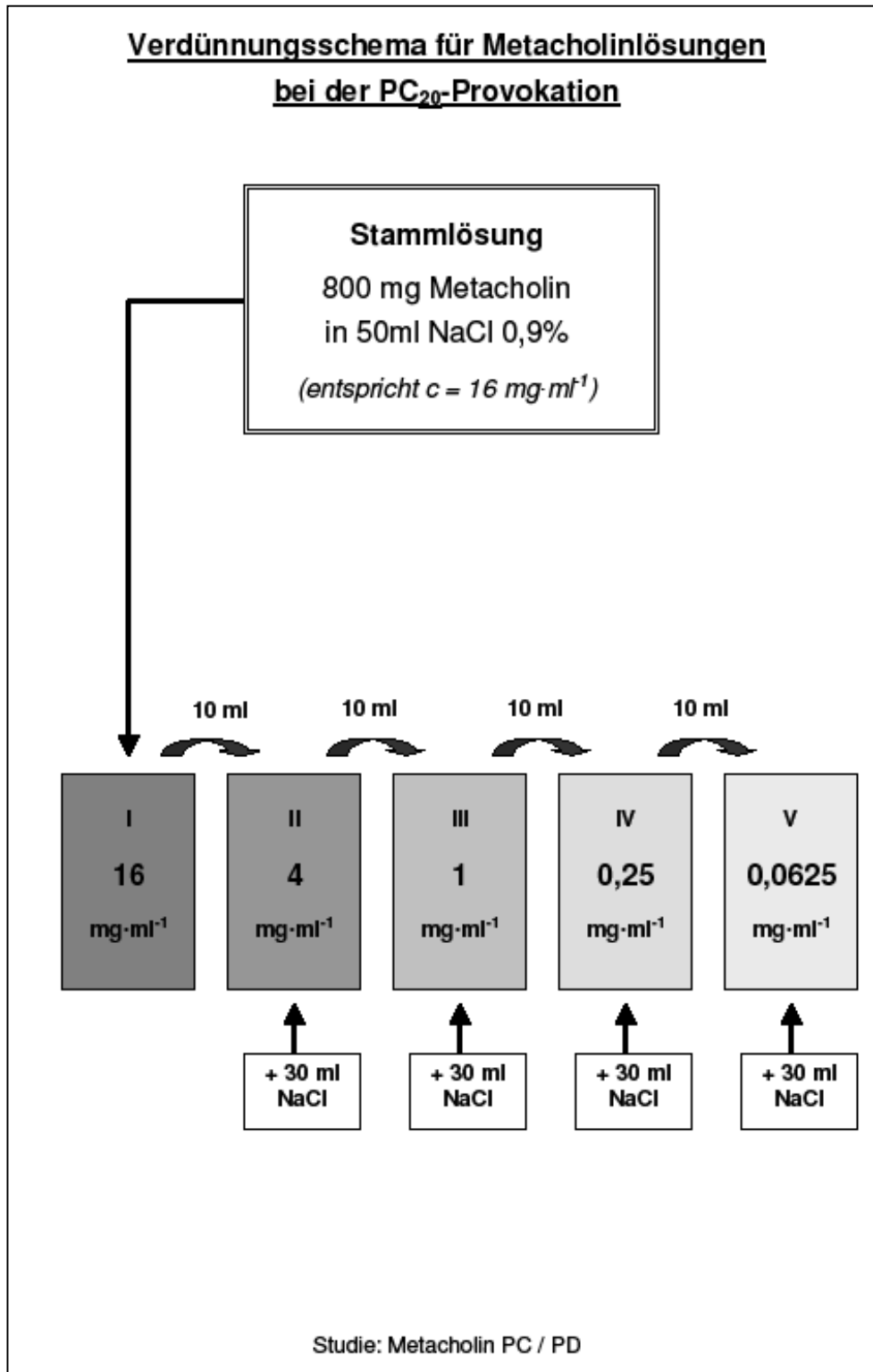
Mussten Sie während der letzten Pollensaison Medikamente einnehmen?

- Nein
- Ja, für den Heuschnupfen
- Ja, für das Asthma

Welche Medikamente haben Sie für den Heuschnupfen bzw. das Asthma während der Pollensaison eingenommen und wie oft haben Sie diese verwendet?

	keine	2 mal	3-4 mal	5-8 mal	9-12 mal	13-16 mal	mehr als 16 mal
Antihistaminika	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Augentropfen	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Nasentropfen	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Kurz wirksames β_2 -Mimetikum (z.B. Salbutamol, Berotec)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Cortison Inhalation	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

7.6 Verdünnungsschema Methacholin (PC₂₀ FEV₁-Methode)



8. Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

Abbildung 1: Hahn Prognose-Intervall.....	23
Tabelle 1: Grenzwerte für PC ₂₀ FEV ₁ -Provokation nach ATS [6]...	9
Tabelle 2: Probandencharakteristika.....	12
Tabelle 3: Stufenschema der SDM (PC ₂₀ FEV ₁).....	17
Tabelle 4: Stufenschema der APS-SC-Methode (PD ₂₀ FEV ₁).....	18
Tabelle 5: Hahn Prognose-Intervall und Kappa-Statistik.....	24
Tabelle 6: Reaktionen in den verschiedenen Provokationsmethoden.....	24
Tabelle 7: Grenzwerte für APS-SC Provokation (PD ₂₀ FEV ₁).....	30
 34
 36
Tabelle 8: Differenzen zwischen den Provokationsstufen	31

9. Literaturverzeichnis

1. Morgan WJ, Stern DA, Sherrill DL et. al. Outcome of asthma and wheezing in the first 6 years of life: follow-up through adolescence. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 172 (10): 1253-1258.
2. Rubin AH, Mansur A, Schey G et. al. Reversibility of small airway obstruction after therapy with salbutamol. *Studies in asymptomatic asthmatic patients after inhalation of pressurized aerosol.* *Chest* 1977; 71(4): 470-472.
3. Vignola AM, Chanez P, Campbell AM et. al. Airway inflammation in mild intermittent and in persistent asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;157 (2): 403-409.
4. Cockcroft DW, Davis BE. Mechanisms of airway hyperresponsiveness. *American Academy of allergy, Asthma and Immunology* 2006.
5. Léguillette R, Lauzon AM. Molecular mechanics of smooth muscle contractile proteins in airway hyperresponsiveness and Asthma. *Proc Am Thorac Soc* 2008; Vol.5: 40-46.
6. Crapo RO, Casaburi R, Coates AL et. al. Guidelines for methacholine and exercise challenge testing - 1999. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001; 163(1): 292-3.
7. Birnbaum S, Barreiro TJ. Methacholine challenge testing: identifying its diagnostic role, testing, coding, and reimbursement. *Chest* 2007; 131(6): 1932-5.
8. Izbicki G, Bar-Yishay E. Methacholine inhalation challenge: a shorter, cheaper and safe approach. *Eur Respir J* 2001; 17 (1): 46-51.
9. Sont JK, Willems L, Bel E et. al. Clinical control and histopathologic outcome of asthma when using airway hyperresponsiveness as an additional guide to long-term treatment. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 159 (4): 1043-1051

10. Beckett WS, Mc Donnell WF, Woud ND. Tolerance to methacholine inhalation challenge in nonasthmatic subjects. *Am Rev Resp Dis.* 1988; 137: 1499-1501.
11. Eiser NM, Kerrebijn KF, Quanjer PH. Guidelines for standardization of bronchial challenges with (nonspecific) bronchoconstriction agents. *Bull Eur Physiopathol Respir* 1983; 19: 495 – 514.
12. Hagmolen of Ten Have W, van den Berg NJ, van der Palen J et. al. Validation of a Single Concentration Methacholine Inhalation Provocation Test (SCIPT) in children. *J Asthma* 2005; 42(6): 419-423.
13. ATS/ERS Recommendations for Standardized Procedures for the Online and Offline Measurement of Exhaled Lower Respiratory Nitric Oxide and Nasal Nitric Oxide, 2005. This Joint Statement of the American Thoracic Society (ATS) and the European Respiratory Society (ERS) was adopted by the ATS Board of Directors, December 2004, and by the ERS Executive Committee, June 2004.
14. Miller MR, Hankinson J, Brusasco V et. al. Standardisation of Spirometry. *Eur Resp J* 2005; 26: 319-338.
15. American Thoracic Society. Guidelines for Methacholine and Exercise Challenge Testing 1999. *Am J Respir Crit Care* 2000; 161: 309–329.
16. Praml G, Scharrer E, de la Motte D et. al. The physical and biological doses of methacholine are different for Mefar MB3 and Jaeger APS Sidestream nebulizers. *Chest* 2005; 128: 3585-3589.
17. Cockcroft DW, Davis BE. The bronchoprotective effect of inhaling methacholine by using total lung capacity inspirations has a marked influence on the interpretation of the test result. *J Allergy Clin Immunology* 2006;117 (6): 1244-1248.
18. Simard B, Turcotte H, Cockcroft DW. Deep inspiration avoidance and methacholine response in normal subjects and patients with asthma. *Chest* 2005; 127 (1): 135-142.

19. Allen ND, Davis BE, Thomas S, Cockcroft DW. Difference between Dosimeter and Tidal Breathing methacholine challenge: Contributions of dose and deep inspiration bronchoprotection. *Chest* 2005; 128: 4018-4023.
20. Ryan G, Dolovich MB, Roberts RS et. al. Standardization of inhalation provocation tests: two techniques of aerosol generation and inhalation compared. *Am Rev Respir Dis* 1981; 123: 195-199.
21. Wubbel C, Asmus MJ, Stevens G. Methacholine challenge testing – Comparison of the two American Thoracic Society-recommended methods. *Chest* 2004; 125 (2): 453-458.
22. Sierstedt HC, Walker CM, O’Shaughnessy AD et. al. Comparison of two standardized methods of methacholine inhalation challenge in young adults. *Eur Respir J* 2000; 15: 181-184.
23. Köbrich R, van Duijn MJ, Lauschner R, et. al. Comparison of a new dosimeter technique, using doubling doses from a single methacholine concentration, with the traditional dosimeter method in bronchial challenge testing (abstract number P 483). European Respiratory Society Congress, Madrid. *Eur Respir J* 1999;14 (suppl 30): 63s.
24. Strunk RC, Szeffler SJ, Philips BR et. al. Relationship of exhaled nitric oxide to clinical and inflammatory markers of persistent asthma in children. *J Allergy Clin Immunology* 2003; 112 (5): 883-892.
25. Jatakanon A, Lim S, Kharitonov SA et. al. Correlation between exhaled nitric oxide, sputum eosinophils, and methacholine responsiveness in patients with mild asthma. *Thorax* 1998; 53: 91-95.
26. del Giudice MM, Brunese FP, Piacentini GL et. al. Fractional exhaled nitric oxide (FeNO), lung function and airway hyperresponsiveness in naïve atopic asthmatic children. *J Asthma*. 2004; 41(7):759-765.

27. Wilson NM, James A, Uasuf C. Asthma severity and inflammation markers in children. *Pediatr Allergy Immunol.* 2001;12:125-132.

10. Danksagung

Meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. Stefan Zielen, danke ich für die Möglichkeit, unter seiner Anleitung meine Promotionsarbeit schreiben und mich mit diesem sehr interessanten Thema auseinandersetzen zu dürfen.

Mein besonderer Dank gilt auch meinem direkten Betreuer, Herrn Dr. med. Johannes Schulze, für die herzliche und engagierte Betreuung. Seine Anregungen, Erläuterungen und Hilfen trugen wesentlich zum Gelingen dieser Arbeit bei.

Zu Dank verpflichtet bin ich den Ambulanzschwestern Tatjana Müller und Claudia Famiglietti, die mir immer mit Rat und Tat zur Seite gestanden haben. Für die Unterstützung in allen statistischen Fragen meinen herzlichsten Dank an Dr. rer. med. Dipl.-Math. Hanns Ackermann sowie Dr. rer. nat. Ralf Schubert.

Meiner Kommilitonin Melanie Dressler, die mit mir ihre Doktorarbeit am Institut begonnen hat, möchte ich dafür danken, dass sie mich immer unterstützt und beraten hat und wir gemeinsam viele Probleme lösen konnten.

Ein großer und herzlicher Dank gilt selbstverständlich meinen Eltern, die mich auf meinem gesamten Ausbildungs- und Dissertationsweg zu jeder Zeit moralisch und finanziell unterstützt und mir die nötigen Freiräume für meine Arbeit geschaffen haben. Nur so war es mir möglich, mich immer optimal auf meine Arbeit konzentrieren zu können.

Danken möchte ich abschließend natürlich auch allen Probandinnen und Probanden, die mich so geduldig bei meiner Forschungsarbeit unterstützt haben.

11. Lebenslauf

Name	Carsten Volker Riemer	
Geburtstag	07. Oktober 1983	
Konfession	römisch-katholisch	
Schule	1990 – 1994 Markwaldschule Mühlheim 1994 – 2003 Friedrich-Ebert-Gymnasium Mühlheim am Main	
Bisherige	2003	Abitur (Note 1,3)
Abschlüsse	2005	1. Staatsexamen Medizin (Note 1,5)
Medizinische Ausbildung	2003 - 2009	Medizinstudium an der Goethe – Universität Frankfurt am Main
	2003 - 2005	Praktika in stationärer Krankenpflege
	2006	Famulatur Innere Medizin (Ketteler-Krankenhaus Offenbach)
	2007 - 2009	Klinische Doktorarbeit (Universitäts- Kinderklinik Frankfurt, Prof. S. Zielen)
	2008	Famulatur Allgemeinchirurgie (Spital Walenstadt, Schweiz)
	2008	Famulatur Anästhesie (Krankenhaus Nordwest, Frankfurt)
	2008	1. PJ-Tertial Innere Medizin (Kantonsspital Sarnen, Schweiz)
	2009	2. und 3. PJ-Tertial Pädiatrie und Chirurgie (Klinikum Offenbach / Main)
Hobbies	Mitglied in der Freiwilligen Feuerwehr, Selbstverteidigungssport	
Sprachen	Englisch, Französisch	



12. Schriftliche Erklärung

Ich erkläre, dass ich diese dem Fachbereich Medizin der Johann Wolfgang Goethe - Universität Frankfurt am Main zur Promotionsprüfung eingereichte Dissertation mit dem Titel

*Vergleich zweier Kurzprotokolle der bronchialen
Methacholinprovokation: PC₂₀ FEV₁ versus PD₂₀ FEV₁*

im

Klinikum der Johann Wolfgang Goethe - Universität
Frankfurt am Main, Zentrum für Kinder- und Jugendmedizin,
Klinik 1: Allergologie, Pneumologie und Mukoviszidose

unter Betreuung und Anleitung von Herrn Prof. Dr. med. Stefan Zielen mit Unterstützung durch Herrn Dr. med. Johannes Schulze ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Ich habe bisher an keiner in- oder ausländischen Universität ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht. Die vorliegende Arbeit wurde bisher nicht als Dissertation eingereicht.

Die Vorliegende Arbeit wurde im Publikationsorgan „Respiratory Medicine“ veröffentlicht: „Johannes Schulze, Martin Rosewich, Carsten Riemer, Melanie Dressler, Markus A. Rose, Stefan Zielen: Methacholine challenge – Comparison of an ATS protocol to a new rapid single concentration technique. Respiratory Medicine (103), 1898 – 1903, 2009“

Frankfurt am Main,
im August 2009

