

Zur Entstehung, Charakterisierung und diagnostischen Nutzbarkeit in der menschlichen Lunge endogen generierter exhalierter Aerosole

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
der Ingenieurwissenschaften
Dr.-Ing.

vorgelegt von
Dipl.-Ing. Katharina Schwarz
aus Neustadt an der Aisch

genehmigt von
der Fakultät für Mathematik/Informatik und Maschinenbau
der Technischen Universität Clausthal

Tag der mündlichen Prüfung
7. Dezember 2012

Vorsitzender der Promotionskommission
Prof. Dr.-Ing. Thomas Turek

Hauptberichterstatte
Apl. Prof. Dr. rer. nat. Dr.-Ing. habil. Wolfgang Koch

Mitberichterstatte
Prof. Dr. rer. nat. Alfred Weber

Inhaltsverzeichnis

1	SYMBOLVERZEICHNIS...	5
2	EINLEITUNG UND ZIELSETZUNG..	8
3	MORPHOLOGIE UND PHYSIOLOGIE DER MENSCHLICHEN LUNGE.....	13
3.1	AUFBAU DER LUNGE	13
3.2	ATEMMECHANIK	16
3.3	OBSTRUKTIVE ATEMWEGSERKRANKUNGEN	17
3.4	LUNGENFUNKTIONSDIAGNOSTIK	19
4	PARTIKELWECHSELWIRKUNGEN IN DER LUNGE	22
4.1	PARTIKELABSCHIEDUNG IM RESPIRATIONSTRAKT.	22
4.2	LUNGENDEPOSITIONSMODELLE	23
5	CHARAKTERISIERUNG EXHALIERTER AEROSOLE.....	26
5.1	PHYSIKALISCHE CHARAKTERISIERUNG	26
5.1.1	<i>Versuchsaufbau</i>	26
5.1.2	<i>Entwicklung eines atemwasserdampfbasierten Kondensationskernzählers</i>	29
5.1.3	<i>Versuchsdurchführung</i>	36
5.1.3.1	Variation der atemphysiologischen Parameter	36
5.1.3.2	Aerosolcharakterisierung bei gesunden und lungenkranken Menschen.....	37
5.1.3.3	Aerosolcharakterisierung unter Mikrogravitation	38
5.1.4	<i>Ergebnisse</i>	39
5.1.4.1	Variation der atemphysiologischen Parameter	39
5.1.4.2	Aerosolcharakterisierung bei gesunden und lungenkranken Probanden.....	43
5.1.4.3	Aerosolcharakterisierung unter Mikrogravitation	49
5.2	BIOCHEMISCHE CHARAKTERISIERUNG	54
5.2.1	<i>Atemkondensatsammlung</i>	54
5.2.2	<i>Entwicklung und Einsatz eines Verfahrens zur unverdünnten Sammlung exhalierter Partikel</i>	55
5.2.3	<i>Ergebnisse</i>	58
5.2.3.1	Optimierung und Standardisierung der Aerosolsammlung im Exhalat	58
5.2.3.2	Partikelabscheidung über Trägheitsimpaktion.....	59
5.3	ZUSAMMENFASSUNG UND DISKUSSION	61

6	AEROSOLENTSTEHUNG UND -TRANSPORT IN DER LUNGE	67
6.1	EINFÜHRUNG	67
6.2	AEROSOLENTSTEHUNG IN DER LUNGE	68
6.2.1	<i>Mechanismus der endogenen Aerosolbildung.....</i>	<i>68</i>
6.2.2	<i>Beschreibung des Mechanismus und relevanter Einflussgrößen bei der Aerosolentstehung über das Verhalten dünner Flüssigkeitsfilme</i>	<i>73</i>
6.2.3	<i>Beschreibung der lungenstruktur- und ventilationsbedingten Einflüsse auf das Partikelanzahlemissionsmuster</i>	<i>82</i>
6.3	AEROSOLTRANSPORT UND –REDEPOSITION IN DER LUNGE	86
6.3.1	<i>Ablagerungsprozesse endogen generierter Partikel in der Lunge</i>	<i>86</i>
6.3.2	<i>Entwicklung eines semi-empirischen Modells für Partikeltransport und – redemption für Parameterstudien zu den Lunge - endogene Aerosole - Wechselwirkungen.....</i>	<i>88</i>
6.3.2.1	<i>Beschreibung des Partikeltransportes und der -redemption in der Lunge über ein semi-empirisches Pfadmodell.....</i>	<i>88</i>
6.3.2.2	<i>Einflüsse der Tröpfchenentstehung auf die Eigenschaften exhalierter Aerosole</i>	<i>92</i>
6.3.2.3	<i>Ventilationsbedingte Einflüsse auf die Eigenschaften exhalierter Aerosole.....</i>	<i>93</i>
6.3.2.4	<i>Lungenstrukturbedingte Einflüsse auf die Eigenschaften exhalierter Aerosole</i>	<i>94</i>
6.4	ZUSAMMENFASSUNG UND DISKUSSION	95
7	PARTIKELBASIERTE DIAGNOSTIK VON LUNGENERKRANKUNGEN.....	98
7.1	PHYSIKALISCHE EIGENSCHAFTEN EXHALIERTER AEROSOLE	98
7.1.1	<i>Atemzuggemittelte Analyse der exhalierten Aerosole</i>	<i>98</i>
7.1.2	<i>Atemzug aufgelöste Analyse der exhalierten Aerosole.....</i>	<i>99</i>
7.1.2.1	<i>Einleitung</i>	<i>99</i>
7.1.2.2	<i>Analyse des Aerosolkonzentrationsprofils.....</i>	<i>100</i>
7.1.2.3	<i>Analyse des Größenspektrums.....</i>	<i>102</i>
7.1.3	<i>Theoretische Betrachtungen zum atemzug aufgelösten Größenspektrum über das morphometrische Lungenmodell</i>	<i>106</i>
7.2	SAMMLUNG EXHALIERTER AEROSOLE FÜR NACHFOLGENDE BIOCHEMISCHE ANALYTIK.....	114
7.3	ZUSAMMENFASSUNG UND DISKUSSION	116
8	ZUSAMMENFASSUNG UND AUSBLICK.....	119
9	LITERATURVERZEICHNIS	123
10	ABBILDUNGSVERZEICHNIS.....	140
11	TABELLENVERZEICHNIS.....	145
12	DANKSAGUNG.....	146

1 Symbolverzeichnis

Symbol	Bedeutung	Einheit
A	Vorfaktor der Partikelanzahlemissionsfunktion, Hamaker-van-der-Waals-Konstante	-
A_i	Querschnittsfläche der Atemwege der Generation i	m^2
b	Exponent der Partikelanzahlemissionsfunktion	-
BAS	Anzahlverhältnis $N(> 0.5 \mu\text{m}, t)/N_{\text{ges}}(t)$ bzw. Konzentrationsverhältnis $c(> 0.5 \mu\text{m}, t)/c_{\text{ges}}(t)$ im Exhalat	-
BAS_{Ex}	gemittelttes Anzahlverhältnis $N(> 0.5 \mu\text{m})/N_{\text{ges}}$ über einen gesamten Exhalationsvorgang	-
BAD	Index für Aerosolbolusdispersion endogen generierter exhalierter Partikel	-
$c(> 0.5 \mu\text{m})$	Partikelkonzentration $> 0.5 \mu\text{m}$ des getrockneten Aerosols	$1/\text{m}^3$
c_{ges}	Gesamt-Partikelkonzentration des getrockneten Aerosols	$1/\text{m}^3$
C_C	Cunningham-Korrekturfaktor	-
d^*	Kritischer Tropfendurchmesser	m
d_0	Düsenweite	m
d_{ACI}	Relativer Durchmesser der Strukturen im Acinus gegenüber dem gesunden Standardmann	-
d_{ap}	Aerodynamischer Partikeldurchmesser	m
$d_{\text{ap},50}$	Aerodynamische Trennkorngröße	m
d_p	Partikeldurchmesser eines getrockneten Teilchens	m
$d_{T1/2}$	Geometrischer Tropfendurchmesser für den Zustand 1/2	m
D	Filmdurchmesser	m
D_i	Atemwegsdurchmesser der Generation i	m
D_{rel}	Relevanter Atemwegsdurchmesser	m
D_v	Diffusionskoeffizient eines Dampfes in der Luft	m^2/s
EAD	Effektiver Atemwegsdurchmesser	m
ERV	Expiratorisches Reservevolumen	m^3
EV	Exhaliertes Volumen	m^3
FEV_1	Forciertes Expirationsvolumen in einer Sekunde	m^3
FRC	Funktionelle Residualkapazität	m^3
FVC	Forcierte Vitalkapazität	m^3
g	Erdbeschleunigung	m/s^2
h	Filmdicke	m
h_c	Kritische Filmdicke	m
H	Halbwertsvolumen für das Partikelkonzentrationsprofil über dem Exhalationsvorgang	m^3
i	Index der Atemwegsgeneration	-
ID	Innerer Durchmesser	m
IRV	Inspiratorisches Reservevolumen	m^3
IV	Inhaliertes Volumen	m^3
k	Boltzmann-Konstante	J/K
L_D	Relative Lungentiefe	-
L_i	Länge des Atemwegs der Generation i	m
M	Molekulargewicht	kg/mol
n	Laufindex	-

$N (> 0.5 \mu\text{m})$	Partikelanzahl $> 0.5 \mu\text{m}$ im getrockneten Aerosol	$1/\text{m}^3$
N_{ges}	Gesamt-Partikelanzahl des getrockneten Aerosols	$1/\text{m}^3$
N_i	Anzahl der Atemwege der Generation i	-
N_p	Partikelanzahl pro Atemzug	-
$P_{1/2}$	Druck für den Zustand 1/2	N/m^2
p	Druck, Irrtumswahrscheinlichkeit, Dimensionslose Kennzahl für die Berechnung der Gesamt- Depositionseffizienz	N/m^2 - -
p_{∞}	Umgebungsampfdruck	N/m^2
$\Delta p_{v,AW,i}$	Strömungsdruckverlust für Atemwegskapillare der Generation i	N/m^2
Δp_v	Dynamischer Druckverlust	N/m^2
$\Delta p_{v,i}$	Strömungsdruckverlust in der Generation i	N/m^2
$\Delta p_{v,Lunge}$	Strömungsdruckverlust in der gesamten Lunge	N/m^2
P_d	Dampfdruck an der Tropfenoberfläche	K
Pe	Pecletzahl	-
P_{ges}	Partikelgrößenspezifische Gesamt-Penetrationseffizienz	-
P_i	Penetrationseffizienz für die Generation i	-
$Q_{AW,i}$	Durchflussrate für eine Atemwegskapillare der Generation i	m^3/s
Q_{ex}	Exhalationsflussrate	m^3/s
Q_{in}	Inhalationsflussrate	m^3/s
r	Abstand in radialer Richtung, Regressionskoeffizient	m -
R	Universelle Gaskonstante	$\text{J}/(\text{molK})$
$R, R_{1/2}$	Radius, Radius der Ebene 1/2	m
$R_{AW,i}$	Strömungswiderstand für Atemwegskapillare der Generation i	
$R_{\text{break-up}}/R_b$	Außenradius des Kreisrings nach dem Filmzerfall	m
Re_g	Reynoldszahl des Gases	-
Re_l	Reynoldszahl der Flüssigkeit	-
RV	Residualvolumen der Lunge	m^3
S	Abstand der Sendedüse von der Prallplatte, Sättigungsverhältnis	m -
S^*	Kritisches Sättigungsverhältnis	-
V_{ges}	Gesamte innere Oberfläche der belüfteten Lungenstrukturen	m^2
S_i	Innere Oberfläche der Atemwege der Generation i	m^2
Stk	Stokeszahl	-
Stk_{50}	Stokeszahl der Trennkorngröße	-
t_A	Aufenthaltszeit eines Partikels	s
t_{ex}	Zeitpunkt im Exhalationsvorgang	s
T	Temperatur	K
T_{∞}	Umgebungstemperatur	K
$T_{1/2}$	Temperatur für den Zustand 1/2	K
T_A	Austrittstemperatur des Gases aus der Düse	K
T_d	Temperatur an der Tropfenoberfläche	K
TLC	Totalkapazität der Lunge	m^3
u	Mittlere Geschwindigkeit für eine Hagen-Poiseuille- Strömung in einem Zylinder	m/s
v_0	Austrittsgeschwindigkeit an der Düsenöffnung	m/s
v	Strömungsgeschwindigkeit	m/s
v_{sed}	Sedimentationsgeschwindigkeit eines Partikels	m/s
V	Volumen	m^3

V_{100}	Exhaliertes Volumen bei dem Konzentrationsmaximum exhalierter Aerosole innerhalb eines Exhalationsvorgangs	m^3
V_{50}	Exhaliertes Volumen bei der Hälfte des Wertes für das Konzentrationsmaximum exhalierter Aerosole innerhalb eines Exhalationsvorgangs	m^3
VC	Vitalkapazität der Lunge	m^3
V_D	Volumetrische Lungentiefe	m^3
V_{ges}	Gesamtvolume der belüfteten Lungenstrukturen	m^3
V_i	Inneres Volumen der Atemwege der Generation i	m^3
V_T	Atemzugvolumen	m^3
W	Schlitzbreite der Sendedüse	m
x	Abstand in axialer Richtung	m

Griechische Buchstaben

α	Rate der Volumenabnahme	$1/s$
Δ	Dimensionslose Kennzahl für die Charakterisierung der diffusiven Abscheidung	-
ϕ	Fuchs-Korrekturfaktor	-
η	Dimensionsloses Raumkoordinatenverhältnis	-
	Gesamt-Depositionseffizienz	-
η_{diff}	Depositionseffizienz infolge der Diffusion	-
$\eta_{diff,i}$	Depositionseffizienz infolge der Diffusion der Generation i	-
η_g	Dynamische Viskosität des Gases	$kg/(ms)$
η_i	Depositionseffizienz in der Generation i	-
η_l	Dynamische Viskosität der Flüssigkeit	$kg/(ms)$
η_{sed}	Depositionseffizienz infolge der Sedimentation	-
$\eta_{sed,i}$	Depositionseffizienz infolge der Sedimentation der Generation i	-
κ	Adiabatexponent,	-
	Dimensionslose Kennzahl für die Charakterisierung der sedimentativen Abscheidung	-
λ	Mittlere freie Weglänge eines Gasmoleküls	m
$\lambda_{c, film}$	Kritische Wellenlänge des Flüssigkeitsfilms	m
$\lambda_{c, lig}$	Kritische Wellenlänge des Flüssigkeitsligamentes	m
$\lambda_{d, film}$	Dominante Wellenlänge des Flüssigkeitsfilms	m
$\lambda_{d, lig}$	Dominante Wellenlänge des Flüssigkeitsligamentes	m
θ	Öffnungswinkel	°
ρ_0	Standardpartikeldichte von 1000 kg/m^3	kg/m^3
ρ_p	Partikeldichte	kg/m^3
ρ_g	Gasdichte	kg/m^3
σ	Oberflächenspannung	N/m
τ	Relaxationszeit eines Partikels	s

Abkürzungen

HSA	<u>H</u> umanes <u>S</u> erum <u>A</u> lbumin
COPD	<u>C</u> hronic <u>O</u> bstructive <u>P</u> ulmonary <u>D</u> isease, Chronisch Obstruktive Atemwegserkrankung
GOLD	Stadieneinteilung für die COPD nach der <u>G</u> lobal Initiative for Chronic <u>O</u> bstructive <u>L</u> ung <u>D</u> isease
BA	<u>B</u> reath <u>A</u> erosol
SBA	<u>S</u> ingle <u>B</u> reath <u>A</u> nalysis

2 Einleitung und Zielsetzung

Neben zahlreichen gasförmigen Substanzen emittiert der Mensch mit jedem einzelnen Atemzug auch Partikel in Form von Mikrotröpfchen. Diese entstammen dem Epithelflüssigkeitsfilm, der die Lunge auskleidet, so dass es nahe liegend ist, die exhalieren Tröpfchen abzuscheiden und zu analysieren. Dies ist ein viel versprechendes Verfahren, das auf nicht-invasivem Wege Aussagen über den Zustand der Lunge erlaubt.

Von besonderer Relevanz ist hierbei die Analyse der nicht-volatilen Moleküle, wie Proteine und Peptide. Die Kenntnis ihrer quantitativen und qualitativen Zusammensetzung in der Lungenflüssigkeit liefert ein, gegenüber den gegenwärtig für die Diagnostik eingesetzten Methoden, spezifischeres Bild über den immunbiologischen Zustand der Lunge. Derzeit werden die nicht-flüchtigen Substanzen in einer Kühlfalle gesammelt, in der die Aerosole zusammen mit dem Wasserdampf aus dem Exhalat abgeschieden (Atemkondensat) und anschließend mittels biochemischer Verfahren analysiert werden (z.B. Hunt, 2002).

Trotz zahlreicher Studien zum Einfluss insbesondere entzündlicher Erkrankungen auf die Konzentrationen unterschiedlicher Marker ist die klinische Anwendung der Atemkondensatsammlung aufgrund der schlechten Reproduzierbarkeit der Ergebnisse und der fehlenden Validierung der Methode bisher nicht möglich (Grob et al., 2008; Rosias et al., 2008; Montuschi, 2007; Scheideler et al. 1993). Als Ursache der hohen Varianz der Substanzkonzentrationen im Atemkondensat wurde jedoch in keiner der Untersuchungen, neben der fehlenden Standardisierung des Sammelverfahrens, die Möglichkeit einer inter- und intra-individuell variablen Aerosolmassenemission in Betracht gezogen. Aufgrund dieser ungenügend verstandenen komplexen Vorgänge der Aerosolentstehung sind daher bislang keine Rückschlüsse von den Analyseergebnissen auf die Konzentration der entsprechenden Moleküle in der Lungenflüssigkeit möglich (Hillas et al., 2009; Hunt, 2007).

Für eine zukünftige valide Diagnostik mittels Atemkondensatsammlung sind daher laut der Task Force der American Thoracic Society und der European Respiratory Society die Klärung der Mechanismen der endogenen Aerosolgeneration und der genauen Entstehungsorte, sowie eine bessere Standardisierung des Verfahrens unabdingbare Voraussetzung (Horvath et al., 2005).

Ein weiteres Problem bei der Atemkondensatsammlung stellt die verfahrensbedingt hohe Verdünnung der zu analysierenden Stoffe durch die Auskondensation des gesamten Wasserdampfes aus dem gesättigten Exhalat dar. Infolgedessen liegen die Konzentrationen der nicht-volatilen Biomarker in der Kondensatprobe häufig im Bereich der Nachweisgrenze oder unterhalb, so dass die Nachweisbarkeit der Substanzen und die Reproduzierbarkeit der Messergebnisse stark eingeschränkt sind (Effros, 2010; Bayley et al., 2008; Hunt, 2007). Bislang fehlen auch Untersuchungen zur Effizienz der Partikelabscheidung in der Kühlfalle, insbesondere in Abhängigkeit von emittierter Partikelgröße und Atemflussrate.

Für eine nachweisstarke biochemische Analytik der nicht-volatilen Komponenten im Exhalat ist daher neben der Standardisierung der Partikelsammlung die Entwicklung von Methoden ohne Auskondensation des Wasserdampfes, d.h. für eine unverdünnte Abscheidung der exhalieren Aerosole, notwendig.

Bislang gibt es nur sehr wenige Studien, in denen die physikalischen Eigenschaften in der Lunge generierter, exhalierter Aerosole eingehend untersucht wurden.

Für den gesunden Menschen ergaben sich Aerosolpartikelkonzentrationen zwischen 100 bis 4000 Partikel pro Liter, wobei sich hohe inter-individuelle Unterschiede zeigten und eine Abhängigkeit von der Aktivität (Ruheatmung, Sprechen, Husten, Stufengehen) zu beobachten war (Fairchild und Stampfer, 1987). Papineni und Rosenthal haben erstmals mittels eines optischen Partikelzählers die exhalierete Größenverteilung detailliert untersucht, wobei technisch nur Partikel mit einem Durchmesser im Bereich von 0.3 bis 2.5 μm erfasst wurden (Papineni und Rosenthal, 1997). Die Größe der ausgeatmeten Aerosolpartikel lag übereinstimmend mit den Ergebnissen erster genauerer Untersuchungen von Fairchild und Stampfer (1987) überwiegend im submikronen Bereich mit einem mittleren Durchmesser von 0.3 μm . Kürzlich wurden bei gesunden Personen mittels optischem Partikelzähler, der Größenklassen ab 85 nm erfasste, die Größenverteilung und Anzahlkonzentration der exhalierten Aerosole unter normaler Ruheatmung analysiert (Edwards et al., 2004). Hierbei zeigte sich, dass die vorherrschende Partikelgrößenklasse zwischen 150 und 200 nm lag. Die Partikelanzahlkonzentration schwankte auch in dieser Untersuchung inter- und intra-individuell in erheblichem Maße (1 bis 10000 Partikel pro Liter). Durch die Inhalation von physiologischer Kochsalzlösung konnte die Partikelanzahlkonzentration reduziert, durch Inhalation von Surfactant hingegen erhöht werden. Als eine mögliche Ursache für die Veränderung der Partikelemission werden in der Literatur Änderungen der rheologischen Eigenschaften der Lungenflüssigkeit, insbesondere der Oberflächenspannung und Viskosität, diskutiert (Watanabe et al., 2007; Fiegel et al., 2006).

Es liegen jedoch keine systematischen Untersuchungen zur Anzahlkonzentration und Partikelgrößenverteilung endogen generierter, exhalierter Aerosole vor. Insbesondere fehlen Daten zur qualitativen und quantitativen Abhängigkeit der Messgrößen von respirationsphysiologischen Parametern und zur inter-individuellen Reproduzierbarkeit der Ergebnisse. Zeitlich hoch aufgelöste Messungen des Partikelanzahlstroms und der Partikelgrößenverteilung, die eine Beurteilung der Abhängigkeit dieser Messgrößen vom Atemmuster, sowie eine Analyse innerhalb eines individuellen Expirationsvorgangs erlauben, existieren ebenfalls nicht. Untersuchungen bei Patienten mit einer Atemwegserkrankung sind bislang ebenso wenig vorgenommen worden.

Darüber hinaus gibt es nur wenige Studien, in denen der Mechanismus der atemflussinduzierten Tröpfchengenerierung in der Lunge eingehend untersucht wird. Insbesondere ist nicht geklärt, welche Mechanismen bei der endogenen Partikelbildung während der normalen Atmung wirken und welchen relativen Anteil sie am Exhalat haben. Die Kenntnis dieser Prozesse und damit verbunden der genauen Entstehungsorte der Tröpfchen in der Lunge ist jedoch eine entscheidende Voraussetzung für die korrekte Interpretation biochemischer Analyseergebnisse aus dem Atemkondensat.

Im Bereich der oberen Luftwege, in denen hohe Fluidgeschwindigkeiten vorliegen, werden Wechselwirkungen der instationären Luftströmung mit der Flüssigkeitsoberfläche des Surfactantfilms als mögliche Tröpfchenquelle diskutiert. Als ein möglicher Mechanismus der Tropfenentstehung in der tiefen Lunge wird die Wiedereröffnung kollabierter Atemwegsstrukturen vermutet (Papineni und Rosenthal, 1997; Gebhart et al., 1988). Theoretische Untersuchungen legen nahe, dass die Oberflächenspannung zwischen dem Lungenflüssigkeitsfilm und der Luft im Atemweg die entscheidende Einflussgröße bei der Entstehung von Atemwegsverschlüssen ist (Malashenko et al., 2009; Heil et al., 2008; Otis et al., 1993; Kamm und Schroter, 1988). Nach dieser Theorie

führen oberflächenspannungsbedingte Instabilitäten in der Surfactantschicht am Ende des Exhalationsvorgangs zur Bildung von Flüssigkeitsbrücken oder zu einem strukturellen Atemwegskollaps. Der steigende transmurale Druck während der Inhalation führt zur Wiedereröffnung verschlossener Atemwegskapillaren, verbunden mit der schlagartigen Trennung des Epithelflüssigkeitsfilms und der Generation feiner Tröpfchen. Das Aufplatzen von Atemwegen bei der Einatmung ist sowohl beim gesunden als auch beim kranken Menschen in Form eines Rasselgeräusches akustisch erfassbar (Alencar et al., 2005; Otis et al., 1996; Piirilä und Sovijärvi, 1995; Workum et al., 1982).

Die Eigenschaften der exhalieren Aerosole werden zum einen durch die Tröpfchenentstehung in den unterschiedlichen Lungenkompartimenten bestimmt und zum anderen durch die Redeposition bereits generierter Partikel in den komplexen Lungenstrukturen während des Exhalationsvorgangs. Der gasgetragene Partikeltransport inhalierter Aerosole und die Partikelabscheidung in der Lunge sind seit drei Jahrzehnten Gegenstand der Forschung, so dass ein guter Kenntnisstand über die relevanten Mechanismen vorliegt (Ashgarian et al., 2001; Grotberg, 2001; ICRP, 1994; Yeh und Schum, 1980). Es ist zu vermuten, dass insbesondere bei der Exhalation für Partikel im Größenbereich oberhalb etwa 0.5 μm die Sedimentation der dominierende Mechanismus für die Redeposition im Erdschwerefeld ist.

Entsprechende Untersuchungen zur Deposition inhalierter Testpartikel unter variablen Gravitationsbedingungen zeigen, dass unter Mikrogravitation die in der Lunge abgeschiedene Fraktion im Größenbereich zwischen 0.5 und 3 μm konstant bei geringen Werten zwischen 10 und 15 % liegt und vor allem unabhängig von der Partikelgröße ist. Für 1 g hingegen ist ein starker Anstieg der Abscheidung mit zunehmendem Partikeldurchmesser zu verzeichnen. Unter bestimmten Atemmustern können sedimentationsbedingt bis zu über 80% der Partikel in der Lunge deponieren (Darquenne et al., 1997). Diese Untersuchungen lassen darauf schließen, dass sich die Eigenschaften der Aerosole am Entstehungsort aufgrund des Einflusses der Redeposition erheblich von denen der exhalieren Tröpfchen unterscheiden können. Bislang gibt es jedoch weder qualitative noch quantitative Aussagen zu Mengen- und Größenverteilung der Aerosole am Entstehungsort in der Lunge.

Das verweilzeitabhängige Sedimentationsverhalten inhalierter monodisperser Partikel wird bei der sog. Aerosolmorphometrie genutzt, um Veränderungen, insbesondere der peripheren Atemwegsdimensionen, bei Lungenerkrankungen zu detektieren. Bei diesem Verfahren inhaliert der Proband unter einem standardisierten Atemmanöver ein monodisperses Testaerosol mit einem mittleren Partikeldurchmesser von 1 μm , wobei die Konzentration als Funktion des eingeatmeten Volumens bestimmt wird. Nach einer postinspiratorischen Atempause wird während der folgenden Exhalation die Abnahme der Konzentration über dem ausgeatmeten Volumen bzw. der Lungentiefe bestimmt. Die Wiederfindungsrate der Partikel in Abhängigkeit von der Aufenthaltszeit der Partikel erlaubt den Rückschluss auf den sog. mittleren effektiven Atemwegsdurchmesser in der betrachteten Lungentiefe (Lehnigk et al., 2001; Blanchard, 1996 B; Brand et al., 1995; Anderson und Dolovich, 1994; Heyder, 1989; Rosenthal, 1989).

Aufbauend auf den Erkenntnissen zum verweilzeitabhängigen Sedimentationsverhalten inhalierter Partikel ist zu erwarten, dass die Eigenschaften exhalierter Aerosole ebenfalls von den individuell vorliegenden morphologischen Verhältnissen in der Lunge abhängen und somit möglicherweise einen rein physikalischen Biomarker für die Detektion krankhafter Veränderungen darstellen.

Neben der morphometrischen Untersuchung der Lunge dienen monodisperse Aerosole im Rahmen der sog. Aerosol-Bolus-Dispersion auch dazu, den konvektiven Transport des Atemgases zu analysieren. Über die Verbreiterung (Dispersion) eines inhalierten Bolus eines Testaerosols mit geringer Redepositionsrates bei der Exhalation ist der Rückschluss auf krankhafte Veränderungen der Atemwege, verbunden mit inhomogener Ventilation der Lunge, möglich (z.B. Hofmann et al., 2008; Verbanck et al., 2001 A; Verbanck et al., 2001 B; Brand et al., 1999). Aufgrund des hohen Aufwands für Aerosolerzeugung und Messtechnik beschränkt sich der Einsatz dieser Verfahren derzeit überwiegend auf wissenschaftliche Untersuchungen.

Der Schwerpunkt der Arbeit liegt auf der Generierung eines Verständnisses der zugrunde liegenden Mechanismen und relevanten Einflussgrößen auf die endogene Aerosolentstehung und den Aerosoltransport sowohl in der gesunden als auch in der krankhaft veränderten Lunge. Aufbauend auf diesen Erkenntnissen werden die anwendungsorientierten Aspekte für die zukünftige Etablierung einer partikelbasierten nicht-invasiven Diagnostik von Lungenerkrankungen abgeleitet und umfassend diskutiert.

Die beiden folgenden Kapitel befassen sich mit den für die Beschreibung dieser Vorgänge relevanten Grundlagen der Aerosolphysik und des Aufbaus der menschlichen Lunge. Der Schwerpunkt im dritten Kapitel liegt auf der Beschreibung der Morphologie und Physiologie der humanen Lunge, insbesondere auch bei obstruktiven Atemwegserkrankungen. Die derzeit angewendeten Methoden der Lungendiagnostik werden vorgestellt. Im vierten Kapitel folgen eine allgemeine Darstellung der Mechanismen der Partikelabscheidung im Respirationstrakt, sowie eine Übersicht über semi-empirische Modelle zur Beschreibung dieser Partikel-Lunge-Wechselwirkungen.

Das fünfte Kapitel beschäftigt sich mit den Untersuchungen zur physikalischen Charakterisierung der Eigenschaften exhalierter Aerosole aus der gesunden und kranken Lunge, insbesondere auch unter variablen Gravitationsbedingungen im Rahmen von Parabelflügen. Zunächst wird der Messaufbau, basierend auf einer zeitlich hoch aufgelösten simultanen Erfassung der Atemvolumenströme, der Partikelanzahl und der Partikelgrößenverteilung, die die Beurteilung dieser Messgrößen in Abhängigkeit des Atemmusters aber auch innerhalb eines individuellen Expirationsvorgangs erlaubt, beschrieben. Insbesondere wird ein neuartiges Verfahren vorgestellt, mit dem die Aerosolkonzentration im Exhalat einfach und kostengünstig bestimmt werden kann. Der folgende Abschnitt dieses Kapitels betrachtet anhand wiederholter systematischer Untersuchungen exhalierter Aerosole die qualitative und quantitative Abhängigkeit der Messgrößen von wichtigen atemphysiologischen Parametern. Die Ergebnisse der physikalischen Tröpfchencharakterisierung für den gesunden Menschen und für Patienten mit obstruktiver Atemwegserkrankung werden gegenüber gestellt. Untersuchungen unter Mikrogravitationsverhältnissen, bei denen die Redepositionsrates auf ein Minimum reduziert ist, ermöglichen qualitative und quantitative Aussagen zu Mengen- und Größenverteilung der Aerosole am Entstehungsort in der Lunge. Des Weiteren wird ein neuartiges, gut standardisierbares Verfahren für eine unverdünnte lokalisierte Abscheidung exhalierter Aerosole vorgestellt, das die Basis für eine valide nachfolgende biochemische Analytik bildet.

Das sechste Kapitel befasst sich mit den Mechanismen der endogenen Aerosolentstehung und des -transports in der menschlichen Lunge. Die relevanten Mechanismen der Tröpfchengeneration und der Einfluss von Partikelredeposition während des Ausatemvorgangs auf die Eigenschaften exhalierter Aerosole werden dargestellt. Für die korrekte Interpretation biochemischer Analysenergebnisse der nicht-volatilen Bestandteile werden die den Prozessen zugrunde liegenden Entstehungsorte bestimmt und geklärt, welchen Anteil sie am exhalieren Aerosol aufweisen. Ein umfassenderer Abschnitt ist der Beschreibung der Tröpfchenentstehung in der Lunge über das Verhalten dünner Flüssigkeitsfilme gewidmet.

Im letzten Kapitel werden die Aspekte exhalierter Aerosole, die für die Diagnostik von Lungenerkrankungen relevant sind, diskutiert. Im ersten Abschnitt stehen die physikalischen Eigenschaften der endogen generierten Partikel für den gesunden und lungenkranken Menschen im Vordergrund. Ziel dieser Betrachtungen ist, die Eignung der Anzahl und Größe der exhalieren Aerosole als rein physikalische Kenngröße für die Diagnostik und Verlaufkontrolle von Lungenerkrankungen zu klären. Eine umfassende Darstellung ist der Entwicklung eines Modells für die Bestimmung der partikelgrößenabhängigen Penetrationseffizienz endogen generierter Aerosole sowohl in der gesunden als auch in der obstruktiv veränderten Lunge gewidmet. Über den Vergleich der in Abhängigkeit vom Gesundheitszustand der Probanden experimentell bestimmten emittierten Partikelgrößenspektren werden Rückschlüsse auf den genauen Ort der Aerosolentstehung und die für die Partikeleigenschaften relevanten morphologischen und physiologischen Einflussgrößen gezogen.

Im letzten Abschnitt steht die Bedeutung der Ergebnisse der physikalischen Charakterisierung der exhalieren Aerosole, d.h. der emittierten Partikelmassenströme, auf die Sammlung und die Interpretation der Ergebnisse nachfolgender biochemischer Analysen der nicht-volatilen Komponenten im Vordergrund.

Der hier eingangs beschriebene Wissensstand sowie die Publikationslage bezüglich der Eigenschaften endogen generierter exhalierter Aerosole, sowie insbesondere deren Anwendbarkeit für die Charakterisierung des Zustands der Lunge, entsprechen dem Stand des Beginns der hier dargestellten Arbeiten im Frühjahr 2008. Aufgrund des mit dieser Matrix verbundenen hohen diagnostischen Potentials handelt es sich hier um ein sehr dynamisches Fachgebiet, so dass sich parallel auch andere, häufig neue Arbeitsgruppen mit der Thematik beschäftigen. Die Zusammenfassung dieser Ergebnisse und Einordnung gegenüber den eigenen Befunden erfolgen jeweils themenspezifisch in den Diskussionsabschnitten am Ende der einzelnen relevanten Kapitel.

Die in der vorliegenden Arbeit umfassend und zusammenhängend dargestellten Erkenntnisse zur Entstehung, Charakterisierung und diagnostischen Nutzbarkeit in der menschlichen Lunge endogen generierter exhalierter Aerosole sind bereits in weiten Teilen von der Autorin, bzw. ihren Kollegen unter maßgeblicher inhaltlicher Beteiligung der Autorin, in einer Vielzahl von Artikeln, Vorträgen, Patentanmeldungen, Postern und Berichten veröffentlicht. Diese seien im Folgenden zusammenfassend aufgelistet: Schwarz et al., 2013; Schwarz et al., 2012; Schwarz et al., 2011 A, B, C, D; Schwarz et al., 2010 A, B, C; Haslbeck und Schwarz et al., 2010; Schwarz et al., 2009 A, B, C; Biller et al., 2012; Hohlfeld und Schwarz, 2011; Hohlfeld et al., 2009. Für eine bessere Übersichtlichkeit wurden entsprechende Verweise auf die eigenen Publikationen in der vorliegenden Arbeit im Wesentlichen nur in den Diskussionsabschnitten zur Abgrenzung und Einordnung gegenüber den Ergebnissen anderer Forschergruppen erstellt.

3 Morphologie und Physiologie der menschlichen Lunge

3.1 *Aufbau der Lunge*

Die Hauptaufgabe der Lunge besteht in der Atmung, d.h. der Versorgung des Blutkreislaufs mit Sauerstoff und dem Abtransport des in den Zellen entstehenden Kohlenstoffdioxids. Hierfür ist im ersten Schritt über die Inhalation der Transport sauerstoffreicher Luft an die innere Lungenoberfläche notwendig, durch die der Sauerstoff in die feinen Blutgefäße diffundiert und zu den Zellen weitergeleitet wird. Das dort entstehende Kohlenstoffdioxid wird analog über den Blutkreislauf in die Lunge geführt und über die Exhalation abgeatmet. Nachdem die Diffusionskapazität neben der Dicke der Blut-Gas-Schranke entscheidend von der Größe der Austauschfläche abhängt, sind für die ausreichende Abdeckung des hohen menschlichen Sauerstoffbedarfs sehr große innere Oberflächen in der Lunge notwendig. Diese werden über eine komplexe Architektur mit Unterteilung der Lunge in eine Vielzahl kleiner Einheiten realisiert, die mit einem verzweigten luftleitenden System, ausgehend von der Trachea mit der Lunge verbunden sind. Grobstrukturell ist die menschliche Lunge hierbei in einen rechten Lungenflügel, aufgeteilt in drei Lungenlappen, und einen linken Lungenflügel, bestehend aus zwei Lungenlappen, aufgegliedert. Innerhalb dieser Segmente wird dabei zwischen dem luftleitenden Bereich und dem acinären Bereich, in dem der Gasaustausch stattfindet, unterschieden. Die Wände der feinen Atemwegsstrukturen in diesem Teil der Lunge, die sog. Bronchiolen, sind bereits teilweise mit Alveolen ausgekleidet, bevor die Alveolengänge folgen, die komplett aus Lungenbläschen bestehen und schließlich im Alveolarsack enden (Ochs und Weibel, 2008; Thews, 2007). Insgesamt liegen beim erwachsenen Menschen nach Studien von Weibel (1963) rund 300 Mio. Alveolen mit einem Durchmesser von rund 0.2 μm vor, neuere Untersuchungen von Ochs (2004) gehen von höheren Werten für die Anzahl an Alveolen von 274 – 790 Mio. in Abhängigkeit von der Größe der Lunge aus. Die Dimensionen der luftleitenden Strukturen bewegen sich bezüglich des Innendurchmessers zwischen 20 mm (Trachea) und 0.3 mm (acinäre Atemwege) und in der Länge entsprechend zwischen 120 mm und 0.5 mm, entsprechend einer gesamten Oberfläche zwischen etwa 43 – 80 m^2 (Haefeli-Bleuer und Weibel, 1988; Yeh und Schum, 1980; Weibel, 1979; Weibel, 1963). Das dem Alveolarraum vorgeschaltete Volumen aller luftleitenden Strukturen bis zum Mund hin, in dem kein Gasaustausch stattfindet, wird als sog. anatomischer Totraum bezeichnet und beträgt ca. 150 ml (Ulmer et al., 2003; Radford, 1964). Die Totalkapazität der Lunge (TLC) wird folglich fast ausschließlich vom Alveolarbereich bestimmt und liegt für den gesunden Menschen je nach Körpergröße, Geschlecht und Alter zwischen 4.5 und etwa 9.5 l. Die Totalkapazität teilt sich auf in das ventilierte Volumen, die sog. Vitalkapazität VC und das sog. Residualvolumen RV, d.h. das nach maximaler Expiration in der Lunge verbleibende Volumen. Ein weiteres für die Lungenfunktionsdiagnostik wichtiges Volumen stellt die Funktionelle Residualkapazität FRC, das die sog. Atemruhelage nach normaler Ausatmung mit dem Tidalvolumen V_T bezeichnet (Abb. 3.1) (Boenisch et al., 2003; Ulmer et al., 2003).

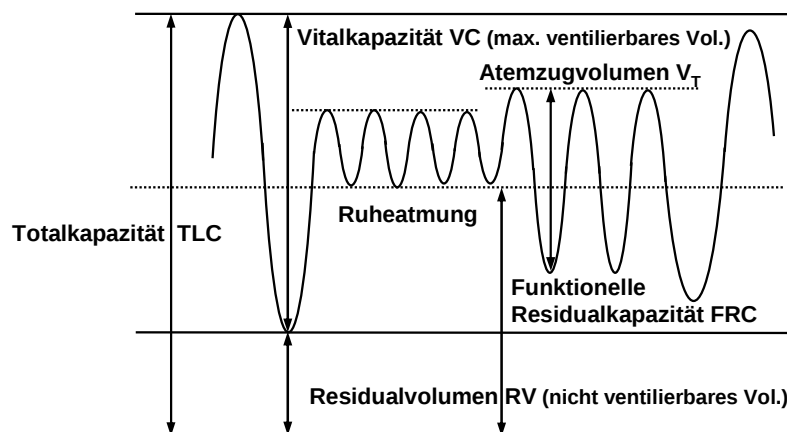
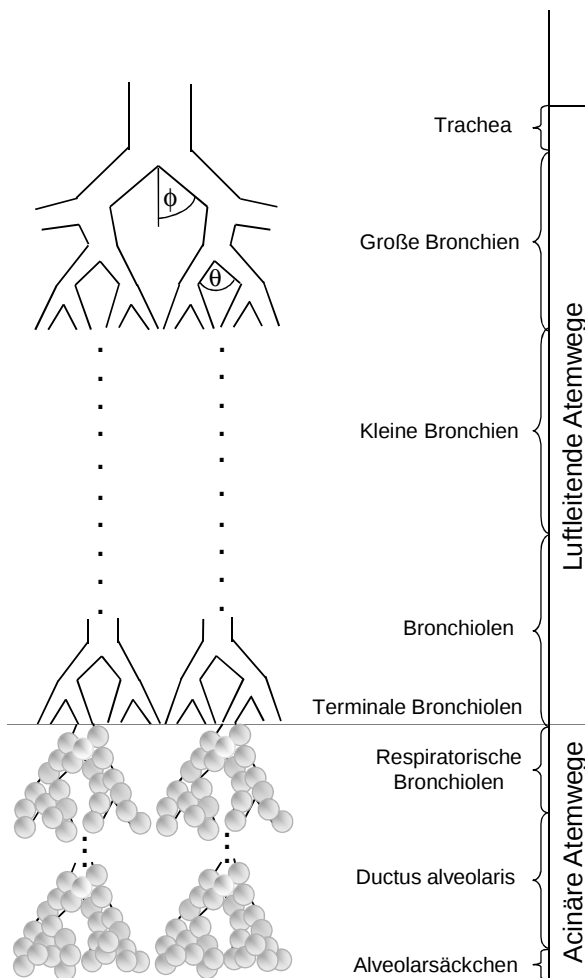


Abbildung 3.1: Lungenvolumina (mittels Bodyplethysmographie erfassbar).

Trotz der in der Realität sehr komplexen Strukturen der Lunge, können die morphologischen Verhältnisse sehr gut über vergleichsweise einfache Modelle wiedergegeben werden. Diese liefern für physikalische Betrachtungen, wie beispielsweise Depositionsuntersuchungen, auch mit vereinfachenden Annahmen hinreichend genaue Ergebnisse (Finlay, 2001; ICRP, 1994; Stahlhofen et al., 1989; Yeh und Schum, 1988). Ein solches Modell wurde erstmalig detailliert von Weibel (1963) anhand umfassender mikroskopischer Untersuchungen des Lungengewebes entwickelt: Es wird ein symmetrischer Aufbau der gesamten Lunge zugrunde gelegt, wobei von der Trachea aus über insgesamt 23 Generationen eine dichotome Aufteilung erfolgt. Die luftleitenden Atemwege der Generationen 0 – 16 stellen dabei den tracheobronchialen Bereich dar, die acinären Atemwege gehören zu dem alveolären Bereich. Die rund 300 Mio. Alveolen stellen zum einen das Ende der Atemwegsstrukturen in der 24. Generation dar, kleiden aber auch die Wände der Atemwege im gesamten Acinus aus (Abb. 3.2) (Thomas, 1996; Yeh und Schum, 1980; Weibel, 1963). In dieser Abbildung sind die Dimensionen der Atemwegsstrukturen für einen Standardmann mit einem Lungenvolumen von 4.5 l bei einer Totalkapazität von 6.4 l (entsprechend einem Füllungsgrad von ca. 70 %) mittels der bekannten Beziehungen nach Weibel (1963) angegeben, sowie zusätzlich die resultierenden Gesamt-Querschnittsflächen in den einzelnen Generationen, die für das Verständnis der Atemphysiologie und der physikalischen Lungenfunktionstestung (siehe Abschnitt 2.3) von entscheidender Bedeutung sind.

In den letzten Jahren können aufgrund der rasanten Entwicklungen radiologischer Verfahren, insbesondere des hochauflösenden CT sowie der Kernspintomografie, realistische Abbildungen der oberen Atemwegsstrukturen herangezogen werden. Für die peripheren Bereiche sind jedoch aufgrund der beschränkten Auflösung sowie der störenden Bewegungen keine bildgebenden *in-vivo* Studien möglich. Hier wird daher meist auf die bereits vor Jahrzehnten, in erster Linie mittels mikroskopischer Verfahren, erstellten Modelle, insbesondere von Weibel (1963) und Yeh und Schum (1980) zurückgegriffen. Hierbei wird ein Teil der Atemwege vermessen und anschließend unter der Annahme, dass dieser Ausschnitt repräsentativ für die gesamte Lunge ist, die Struktur des ganzen Organs ermittelt. Dieses Verfahren führt zu symmetrischen deterministischen Lungenmodellen, in denen die Atemwege der einzelnen Generationen jeweils die gleichen Dimensionen aufweisen („Pfadmodell“), d.h. alle Pfade zwischen Trachea und

Alveolarraum sind identisch. In der Realität ist die Lunge jedoch unsymmetrisch aufgebaut mit fünf Lungenlappen, wobei die Dimensionen der einzelnen Pfade jeweils relativ breiten Verteilungen unterliegen. Für die entsprechende Abbildung dieser unsymmetrischen Strukturen werden als Verfeinerung asymmetrische deterministische Lungenmodelle mit geometrisch unterschiedlichen Pfaden, sog. multi-path models, entwickelt, häufig auch in Kombination mit stochastischen Ansätzen für die morphometrischen Verhältnisse (Hofmann, 2011; Hofmann, et al 2002; Ashgarian et al., 2001; Koblinger und Hofmann, 1990; Koblinger und Hofmann, 1985). Ebenso wurden für die Abbildung der Alveolen in den Lungenmodellen verschiedene Ansätze herangezogen, eine Übersicht hierzu findet sich bei Hofmann (2011). So werden die einzelnen Alveolen beispielsweise als Kugeln betrachtet oder die Dimensionen der alveolären Atemwege werden entsprechend der Volumenzunahme durch die anliegenden Alveolen erhöht. Nachdem die in den verschiedenen Lungenmodellen ermittelten Dimensionen der Atemwege von dem Absolutvolumen *TLC*, sowie der Atemlage *FRC* und dem Füllungsgrad der Lunge abhängen, ist eine entsprechende Skalierung der Strukturen notwendig, die beispielsweise erfolgreich über einen konstanten Faktor für die einzelnen Elemente realisiert wird (Hofmann, 2011; Hofmann et al., 2002; ICRP, 1994; Raabe et al., 1976).



		N	L	D	A	S
		-	cm	cm	cm ²	cm ²
Luftleitende Atemwege	Trachea	0	12.000	1.800	2.5	68
		1	4.760	1.220	2.3	36
	Große Bronchien	2	1.900	0.830	2.2	20
		3	0.760	0.560	2.0	11
		4	1.270	0.450	2.5	29
		5	1.070	0.350	3.1	38
	Kleine Bronchien	6	0.900	0.280	3.9	51
		7	0.760	0.230	5.3	70
		8	0.640	0.186	7.0	96
		9	0.540	0.154	9.5	134
	Bronchiolen	10	0.460	0.130	13.6	192
		11	0.390	0.109	19.1	274
		12	0.330	0.095	29.0	403
		13	0.270	0.082	43.3	570
	Terminale Bronchiolen	14	0.230	0.074	70.5	876
		15	0.200	0.066	112.1	1359
		16	0.165	0.090	185.3	2038
Acinäre Atemwege	Respiratorische Bronchiolen	17	0.141	0.081	300.2	3135
		18	0.117	0.075	514.7	4818
		19	0.099	0.047	909.6	7664
		20	0.083	0.045	1667.7	12304
	Ductus alveolaris	21	0.070	0.043	3045.5	19831
		22	0.059	0.042	5811.0	32652
	Alveolarsäckchen	23	0.050	0.041	11075.1	54025
		24	0.023	0.023	123853.2	495413

Abbildung 3.2: Modell der menschlichen Lunge mit den einzelnen aufeinander folgenden Lungenabschnitten und dem Verzweigungsmuster der Atemwegsstrukturen nach Weibel, modifiziert nach Weibel (1963) und Yeh und Schum (1980).

Neben diesen Ansätzen mit der sehr detaillierten Abbildung der gesamten Atemwegsstrukturen aller Regionen der Lunge existieren auch eine Reihe deutlich einfacherer Modelle mit meist 3 – 4 lokalen Kompartimenten (z.B. ICRP, 1994), deren Anwendung ebenfalls zu hinreichend guten Ergebnissen für die Depositionsbestimmung führt.

3.2 Atemmechanik

Aus der Betrachtung der Querschnittsfläche im acinären Bereich folgt unmittelbar, dass die Strömungsgeschwindigkeiten bei normaler Atmung hier vernachlässigbar sind und der Gastransport an die Austauschzone in den alveolären Strukturen ausschließlich durch Diffusion realisiert wird. Der Übergang zwischen konvektivem und diffusivem Sauerstofftransport erfolgt bei der Ruheatmung etwa in der 18. Generation (Wert der Peclet-Zahl $Pe = 1$) (Tsuda et al., 2008; Weibel et al., 2005; Sapova et al., 2002).

Eine wichtige Aufgabe der luftleitenden Atemwege besteht auch in der Erwärmung auf Körpertemperatur sowie der vollständigen Befeuchtung der inhalierten Atemluft, um die empfindliche Gasaustauschfläche in den Alveolen vor Austrocknung zu schützen, weiterhin dienen sie als Filter für grobe Partikel. Für die Einatmung (Inspiration) kontrahiert das Zwerchfell, das den wichtigsten Muskel für die Atemmechanik darstellt, so dass die Bauch- und Beckeneingeweide abwärts gedrückt werden und sich das Thoraxvolumen entsprechend vergrößert. Bei der Brustatmung, sowie allgemein großer Atemanstrengung, erfolgt zusätzlich eine Kontraktion der Zwischenrippenmuskeln und weiterer Atemhilfsmuskeln. Die Zunahme des Thoraxvolumens führt zur Dehnung der Lunge, der Alveolardruck wird negativ und Luft strömt in die Lungen ein. Der Druck in dem sog. Pleuraspalt, dem Spaltraum über den die Lunge in Verbindung mit dem Brustkorb steht, sinkt. Dieser extrem enge Spaltraum ist mit einer serösen Flüssigkeit gefüllt, die das Aneinandergleiten der beiden Oberflächen während der Atmung ermöglicht. Im Pleuraspalt herrscht immer ein negativer Druck, dieser sog. intrapleurale Druck liegt während der Inspiration infolge der Volumenausdehnung des Thorax bei ca. $-8 \text{ cmH}_2\text{O}$ und sinkt in der statischen Position auf einen Wert von $-5 \text{ cmH}_2\text{O}$ (Reichenberger et al., 2007; Siegenthaler und Blum, 2006; Wikipedia: Lunge).

Bei der Expiration zieht sich die Lunge infolge der Relaxation der Atemmuskulatur wieder zusammen. Es stellt sich ein positiver Alveolardruck ein, die eingeatmete Luft strömt wieder aus. Die Expiration stellt bis zum Gleichgewicht zwischen dem Alveolardruck und dem Umgebungsdruck, das sich bei Erreichen der funktionellen Residualkapazität einstellt, einen passiven Vorgang dar. Nachdem der intrapleurale Druck stets negativ ist, liegt während des gesamten Expirationsvorgangs ein positiver transmuraler Druck vor, d.h. der Alveolardruck ist grundsätzlich höher als der Druck im Pleuraspalt. Dieser positive transmurale Druck ist eine wesentliche Voraussetzung dafür, dass die Atemwege unter normalen Bedingungen geöffnet bleiben, daneben kommt auch den oberflächenaktiven Substanzen (surface active agents), dem sog. Surfactant, eine entscheidende Bedeutung zu (Reichenberger et al., 2007; König und Lipp, 2007; Ulmer et al., 2003; Notter, 2000; Goerke, 1992).

Die Grenzflächenspannung zwischen einer Gas- und Flüssigkeitsphase führt an gekrümmten Oberflächen nach dem Young-Laplace-Gesetz zu einem erhöhten Druck, entsprechend

$$p = \frac{2\sigma}{R} \quad \text{bzw.} \quad p = \frac{1}{R_1} + \frac{1}{R_2} \quad (3.1)$$

für eine kugelförmige Geometrie bzw. eine beliebig gekrümmte Fläche (Heil et al., 2008; Notter, 2000).

Die Betrachtung der Druckverhältnisse für unterschiedlich große Alveolen oder Atemwege, wie sie in der Realität vorliegen, zeigt, dass Strukturen mit gleicher Oberflächenspannung, aber unterschiedlichen Dimensionen instabil sind. In den kleinen, stärker gekrümmten Strukturen, treten höhere interne Drücke auf, so dass diese kollabieren und sich in größere Strukturen mit niedrigerem Druck entleeren, die wiederum überdehnt werden. Dieses Stabilitätsproblem wird in der Realität über die Auskleidung der Innenwände der Alveolen und feinen Atemwegsstrukturen mit oberflächenaktiven Substanzen, d.h. Molekülen mit räumlich getrennten hydrophilen und hydrophoben Gruppen, umgangen. Die in dem Lungensurfactant enthaltenen Substanzen, überwiegend Phospholipide, generieren mit zunehmendem Krümmungsradius, d.h. zunehmender Konzentration der Moleküle an der Flüssigkeitsoberfläche, niedrigere Oberflächenspannungen, verbunden mit einer Abnahme des Druckes (Notter, 2000). Somit ist eine intakte Bildung dieser oberflächenaktiven Substanzen von besonderer Bedeutung, um die Lungenstrukturen offen zu halten und eine gute Ventilation aller Areale sicher zu stellen. Das Vorliegen verschiedener Erkrankungen führt jedoch zu Veränderungen der Konzentration und Zusammensetzung des Lungensurfactants, verbunden mit einer erhöhten Neigung zum Kollaps von Atemwegsstrukturen (Ellyet et al., 2006; Griesse, 1999; Taskar et al., 1997; Pison et al., 1996; Hamm et al., 1996).

3.3 Obstruktive Atemwegserkrankungen

„Obstruktive Ventilationsstörungen sind durch die Verminderung der Atemflussparameter charakterisiert. Die Obstruktion kann in allen Teilen der Atemwege entstehen. Ursächlich kommen grundsätzlich entzündliche Prozesse, Tumoren, Traumen oder angeborene Störungen in Betracht. Asthma bronchiale und chronisch obstruktive Lungenerkrankung (chronic obstructive pulmonary disease, COPD) sind häufige Erkrankungen, bei denen die Obstruktion durch entzündliche Prozesse verursacht wird“ (aus Siegenthaler und Blum, 2006, Kapitel 27, S. 769). Die COPD umfasst ein weites Spektrum an Symptomen und funktionellen Beeinträchtigungen der Lunge: chronischer Husten, gesteigerte Sputumproduktion, Luftnot, Atemwegsobstruktion und einen reduzierten Gasaustausch (Nat. Versorgungsleitlinie COPD, 2012).

Eine sehr gute Übersicht über die Pathogenese und die strukturellen Veränderungen bei der COPD geben z.B. Hogg (2008) und Daheshia (2005). Pathophysiologisch ist diese Erkrankung in erster Linie auf eine chronische entzündliche Immunreaktion insbesondere der peripheren Atemwege zurückzuführen, hervorgerufen durch die Inhalation toxischer Partikel und Gase (Hogg, 2008). Hauptursache stellt lang anhaltender Zigarettenkonsum dar, daneben gibt es auch eine Reihe weiterer irritativer Schadstoffe, wie Lacke, Sprays, Feinstäube, z.B. in der Landwirtschaft auch in Verbindung mit der Inhalation reizender Gase wie Stickoxiden (Nat. Versorgungsleitlinie COPD, 2012; Vogt und Ruegger, 2002).

Die chronischen Entzündungsvorgänge führen zu Reparatur- und Umbauvorgängen (Remodeling) verbunden mit der Verdickung und folglich Einengung feiner luftleitender Atemwege mit einem Durchmesser < 2.5 mm (McDonough et al., 2011; Hogg, 2008; Haswgawa et al., 2006; Rutgers et al., 2001; Hogg, 1968). Die zweite bedeutende Komponente der Erkrankung, die nach derzeitigen Erkenntnissen vermutlich auf die Obstruktion zurückzuführen ist, ist das sog. Lungenemphysem, „[...] pathologisch-anatomisch definiert als irreversible Erweiterung und Destruktion der Lufträume distal der Bronchien“ (aus Nat. Versorgungsleitlinie COPD, 2012, S. 29, nach Fletcher et al., 1959). Hervorgerufen ist dies nach derzeitigen Erkenntnissen vermutlich in erster Linie durch die mit der Obstruktion verbundene Überblähung der peripheren Strukturen, die mit der Zerstörung von Alveolarwänden einhergeht. Daneben treten, vermutlich infolge der entzündlichen Vorgänge, Störungen in der Surfactantbildung auf, die zu einem Kollaps und Entleerung kleiner Strukturen in größere führen. So zeigt sich für Patienten mit leichter bis mittelschwerer COPD eine Zunahme der relevanten Dimensionen der Atemwege auf bis zu 0.8 mm, für Patienten mit schwerem Emphysem sogar auf bis zu 1.2 mm gegenüber einem Wert von ca. 0.4 mm bei gesunden Vergleichspersonen. Lungenfunktionsanalytisch gibt der Grad der Atemwegsobstruktion jedoch kaum einen Hinweis auf das Ausmaß der Zerstörung des Lungengewebes und damit die Einschränkung des Gasaustauschs, so dass hier komplexere Untersuchungen herangezogen werden müssen (Quirk et al., 2011; McDonough et al., 2011; Macklem, 2010; Hogg et al., 2009; Yablonskiy et al., 2009; Notter, 2000; Gough, 1965). Die Prävalenz liegt derzeitigen Erkenntnissen zufolge in Europa und Nordamerika bei 8 – 13 % der erwachsenen Bevölkerung und sie stellt weltweit die vierthäufigste Todesursache dar. Dies ist verbunden mit enormen volkswirtschaftlichen Kosten, so liegen in Deutschland die durchschnittlichen Kosten pro Jahr für einen COPD-Patienten bei gut 3000 Euro. (Lungenärzte im Netz, 2012; Nowak et al., 2004; Lopez und Murray, 1998; Murray und Lopez, 1996). Zukünftig ist eine weitere Zunahme der Inzidenz der COPD zu erwarten, so dass Früherkennung und Verlaufskontrolle der Erkrankung ein herausragendes Ziel in der pneumologischen Diagnostik darstellen.

„Asthma bronchiale ist eine chronisch-entzündliche Erkrankung der Atemwege mit bronchialer Hyperreagibilität, reversibler Bronchialobstruktion und Hypersekretion“ (aus Siegenthaler und Blum, 2006, S. 769, nach Bousquet, 2000). Betroffen von dieser Erkrankung, die sowohl durch allergische (z.B. Pollen) als auch nicht-allergische Mechanismen ausgelöst wird, sind etwa 10 % der Kinder und 5 % der erwachsenen Bevölkerung (Siegenthaler und Blum, 2006; Konietzko und Fabel, 2005). Diese Erkrankung ist symptomatisch gekennzeichnet durch Episoden von Husten, Luftnot und Brustenge. Die Anzeichen können zeitweise (intermittierend), z.B. in Abhängigkeit einer relevanten Allergenbelastung, oder dauerhaft auftreten. Die Prävalenz des Asthma bronchiale ist in den letzten Jahren deutlich angestiegen, verbunden mit einer hohen sozioökonomischen und medizinischen Relevanz (Nat. Versorgungsleitlinie Asthma, 2011; Siegenthaler und Blum, 2006; Konietzko und Fabel, 2005). Die Entzündung der Atemwege führt über mehrere Mechanismen zur Verengung der Bronchien: Kontraktion von Muskelzellen in den Atemwegswänden, Wassereinlagerungen in den Atemwegen, vermehrte Sekretbildung und Umbau der Atemwege (Remodelling) mit einer Vermehrung des Gewebes. In den letzten Jahren hat sich herausgestellt, dass neben den zentralen Atemwegen auch die peripheren Atemwege bei der Entstehung und Behandlung, sowie insbesondere der Detektion und Verlaufskontrolle des persistierenden Asthma bronchiale eine entscheidende Bedeutung haben (Farah et al., 2012; Kaminsky, 2011). Diese Veränderungen in den feinen Atemwegsstrukturen sind jedoch mit

konventionellen Methoden der Lungenfunktionsprüfung nur schwer detektierbar, so dass auch hier weitergehende und komplexere Diagnostikverfahren notwendig sind (siehe Abschnitt 3.4 Lungenfunktionsdiagnostik).

Neben den hier ausführlich beschriebenen Krankheitsbildern existieren noch eine Reihe weiterer Lungenerkrankungen, die von großer Relevanz sind, wie beispielsweise Lungenfibrose. Nahezu allen diesen Krankheiten gemeinsam ist die hohe Bedeutung der Entwicklung neuer, nicht-invasiver und hochsensitiver Diagnostikverfahren. Diese können sowohl auf rein physikalischen Prinzipien (z.B. Bildgebung) beruhen, als auch auf biochemischen Analysen der verschiedenen flüchtigen und nicht-flüchtigen Anteile in der Atemluft.

3.4 Lungenfunktionsdiagnostik

Es gibt eine Vielzahl von Verfahren zur Analyse des Gesundheitszustands der Lunge, die sich sowohl hinsichtlich ihres zugrunde liegenden Funktionsprinzips als auch hinsichtlich Sensitivität und Spezifität, Zeit- und Kostenaufwand sowie der Belastung für den Patienten deutlich unterscheiden. Am häufigsten kommen spirometrische Verfahren zum Einsatz, die basierend auf der Messung des Atemflusses, d.h. auf rein physikalischem Wege, dynamische und statische Lungenvolumina erfassen. Über die Aufzeichnung der sog. Fluss-Volumen-Kurve, d.h. der maximalen expiratorischen Atemflussrate über dem ausgeatmeten Volumen, sind das Tidalvolumen V_T , die Vitalkapazität VC , die sog. forcierte Vitalkapazität FVC („das nach max. Inspiration mit stärkster Anstrengung und schnellstmöglich ausgeatmete Luftvolumen“ (aus Boenisch et al., 2003, S. 14), das inspiratorische und das expiratorische Reservevolumen IRV bzw. ERV , („das nach normaler Inspiration zusätzlich einatembare Luftvolumen“ bzw. „das nach normaler Expiration von der Atemruhelage aus zusätzlich ausatembare Luftvolumen“ (aus Boenisch et al., 2003, S. 13) bestimmbar. Für viele Erkrankungen sind jedoch auch Veränderungen im Umfang des nach der Ausatmung in der Lunge verbleibenden Volumens, d.h. des Residualvolumens und der Totalkapazität, sowie des Strömungswiderstandes in den Atemwegen von großer diagnostischer Bedeutung. Für die vertiefte und damit auch deutlich aufwändigere Bestimmung dieser Größen kommt die sog. Ganzkörperplethysmografie zum Einsatz. Basierend auf dem Gesetz von Boyle und Mariotte ($p \times V = \text{konst.}$ unter isothermischen Bedingungen), ist über die Bestimmung der Atemflusskurve in einer telefonzellenartigen druckdichten Kabine zusätzlich die Ermittlung dieser Kennwerte möglich (Siegenthaler und Blum, 2006; Ulmer et al., 2003; Boenisch et al., 2003).

Diese spirometrischen Verfahren stellen die derzeit etablierten mit geringem Aufwand durchführbaren Methoden der Lungenfunktionsprüfung dar. Diesen beiden Verfahren gemeinsam ist jedoch, dass sie Veränderungen in der Lungenperipherie nur sehr unzureichend erfassen, da die Ergebnisse primär auf der Höhe des Atemwegswiderstands beruhen (Shaw et al., 2002; Thurlbeck, 1973). Werden die Dimensionen aus dem Weibel-Modell der Lunge zugrunde gelegt, liegt bei normaler, d.h. nicht forcierte Atmung ($Q_{\text{ex}} \leq 30 \text{ l/min}$), in allen Atemwegstrukturen eine laminare Strömung vor. Nach dem Gesetz von Hagen-Poiseuille ist der Druckverlust $\Delta p_{v,AW,i}$ in einer Atemwegskapillare bei konstantem Volumenstrom direkt proportional dem Durchfluss $Q_{AW,i}$:

$$\Delta p_{v,AW,i} = \frac{Q_{AW,i} 8\eta_f L}{\pi (D_i/2)^4} = Q_{AW,i} R_{AW,i} \quad (3.2)$$

Weiterhin ergibt sich für die individuelle Generation unter Betrachtung einer Parallelschaltung der gleich hohen Widerstände der einzelnen Atemwege $R_{AW,i}$

$$\Delta p_{v,i} = \Delta p_{v,AW,i} \quad (3.3)$$

Der Gesamtdruckverlust $\Delta p_{v,Lunge}$ berechnet sich aus der Summe der Einzeldruckverluste der Atemwegsgenerationen $\Delta p_{v,AW,i}$ zu

$$\Delta p_{v,Lunge} = \sum_{i=1}^{24} \Delta p_{v,AW,i} \quad (3.4)$$

Die aus der dichotomen Aufteilung der Atemwegsstrukturen resultierende massive Zunahme der Gesamt-Querschnittsfläche überwiegt die Zunahme des Atemwegswiderstands infolge der in Richtung Lungenperipherie abnehmenden Dimensionen, verbunden mit einer deutlichen Abnahme des Druckverlustes (siehe auch McDonough et al., 2011; Macklem, 2010; Hogg et al., 2009).

Dieser ist in den oberen Atemwegsstrukturen im Bereich etwa der 6. – 8. Generation aufgrund der geringen Gesamtquerschnittsfläche am höchsten (siehe Abb. 3.2). Folglich repräsentieren die Ergebnisse der Lungenfunktionsprüfung, basierend auf der spirometrischen Bestimmung der Fluss-Volumen-Kurve, primär den Zustand der zentralen Atemwege, während eine Obstruktion in den peripheren Strukturen, insbesondere im Frühstadium, aufgrund der fehlenden Gesamt-Flusslimitation unbemerkt bleibt. Die kleinen Atemwege mit einem Durchmesser < 2 mm tragen lediglich etwa 10 % zum Gesamt-Widerstand bei, so dass erst eine massive Reduktion des Querschnitts bzw. der Anzahl belüfteter Strukturen, wie sie nur in einem relativ fortgeschrittenen Krankheitsstadium auftritt, mit diesen Methoden detektierbar ist (Hogg et al., 2009; Shaw et al., 2002). Somit sind FEV_1 bzw. FEV_1/FVC als Goldstandard für die Objektivierung einer Obstruktion nur eingeschränkt sensitiv, zudem sind die spirometrischen Verfahren in hohem Maße mit arbeitsabhängig. Eine beginnende Abnahme des belüfteten Lungenvolumens oder eine inhomogene Ventilation, wie sie im Anfangsstadium vieler Lungenkrankheiten auftreten, sind mit den etablierten Methoden ebenfalls nicht erkennbar (Brand et al., 1994). So gehen beispielsweise eine mit beruflicher Exposition verbundene chronische Bronchitis bei jungen Erwachsenen oder leichte Silikoseformen ohne Beschwerden und insbesondere auch ohne lungenfunktionsanalytisch erfassbare Einschränkungen einher (Nowak, 2006; Sunyer et al., 2005). Ebenso zeigen Asthmatiker Veränderungen in den peripheren Bereichen, die mittels Spirometrie nicht detektierbar sind (Farah et al., 2012; Scichilone et al., 2009; Stenton et al., 1993). Aussagen über den Gesundheitszustand in der Lungenperipherie sind lediglich bedingt im Rahmen komplexer und kostenaufwändiger bildgebender Verfahren (z.B. Hochauflösendes CT), sowie zu einem gewissen Ausmaß über die Analyse des Gasaustauschs mittels Messung der Diffusionskapazität (DLCO) möglich (Siegenthaler und Blum, 2006; Ulmer et al., 2003; Shaw et al., 2002). Ein kostengünstiges, nicht-invasives einfaches Verfahren für eine routinemäßige Analyse früher, insbesondere morphometrischer Veränderungen in der Lungenperipherie, existiert nicht.

Neben den physikalischen Verfahren (Bestimmung von Lungenvolumina, Bildgebung, u.a.) kommen auch biochemische Methoden zur Analyse von Substanzen sowohl in der Ausatemluft als auch in dem Lungenflüssigkeitsfilm zum Einsatz. Von besonderem Interesse ist dabei die Untersuchung der nicht-volatilen Stoffe in der Lungenflüssigkeit, insbesondere der Proteine und Peptide, die ein detailliertes Bild über den immunologischen Zustand der Lunge ermöglichen. Für die Betrachtung der oberen Atemwege ist hierfür die sog. Sputuminduktion als halb-invasives Verfahren zur Materialgewinnung bzw. eine voll-invasive Bronchoskopie mit einer bronchoalveolären Lavage für die Probenahme aus der gesamten Lunge notwendig. Diese Verfahren sind jedoch mit deutlichen Belastungen für den Patienten und hohen Ausgaben verbunden, so dass in diesem Feld ein hoher Bedarf an nicht-invasiven einfachen Diagnoseverfahren besteht. Nachdem die nicht-flüchtigen Substanzen auch über Tröpfchenbildungsprozesse aus der Lunge heraus freigesetzt werden, besteht eine nicht-invasive Methode in der Sammlung der Aerosole gemeinsam mit dem Wasserdampf aus dem Exhalat (Hunt, 2002). Aufgrund der bislang sehr schlechten Reproduzierbarkeit und schwierigen Nachweisbarkeit hat dieses Verfahren jedoch noch keinen Eingang in die klinische Routine gefunden, so dass hier dringender Handlungsbedarf besteht (Effros, 2010; Bayley et al., 2008; Hunt, 2007; Gessner, 2006; Effros et al., 2004; Ulmer et al., 2003; Scheideler et al., 1993).

4 Partikelwechselwirkungen in der Lunge

4.1 Partikelabscheidung im Respirationstrakt

Bei der Betrachtung der physikalischen Eigenschaften endogen generierter exhalierter Aerosole und insbesondere für die Bildung von Rückschlüssen auf die Mechanismen der Tröpfchenentstehung in der Lunge sind die Partikel-Lunge-Wechselwirkungen zu berücksichtigen. Evolutionsbedingt wirken die verschiedenen Abschnitte des Respirationstraktes wie ein Filter, um das Eindringen schädlicher luftgetragener Partikel, wie beispielsweise pathogener Erreger in sensitive Bereiche der Lunge zu vermeiden. Hierbei überlagern sich mehrere Mechanismen, die partikelgrößenabhängig in den einzelnen Regionen der Lunge quantitativ unterschiedlich stark zum Tragen kommen. Dies sind im vorliegenden Fall im Wesentlichen Trägheitsabscheidung, Sedimentation und diffusive Ablagerungsmechanismen. Andere Abscheidemechanismen sind für den Transport endogen generierter exhalierter Aerosole auch unter Berücksichtigung der bislang vorliegenden Daten nicht zu erwarten. Die Depositionseffizienz für die einzelnen Mechanismen ist neben den Eigenschaften des Aerosols, d.h. insbesondere der Partikelgröße, auch entscheidend von den atemphysiologischen Parametern, d.h. Atemflussrate und Atemzugvolumen, sowie den morphologischen Verhältnissen in der Lunge abhängig. Größenänderungen der endogen generierten Partikel innerhalb der Lunge sind nicht zu erwarten, da die Aerosolentstehung in einer wasserdampfgesättigten Umgebung stattfindet, für Koagulationsvorgänge sind die vorliegenden Konzentrationen zu gering. In der Abbildung 4.1 dargestellt ist die Gesamt-Depositionseffizienz als Funktion des Partikeldurchmessers, ermittelt über ein semi-empirisches Abscheidemodell für die Lunge. Die Gesamt-Depositionseffizienz, d.h. die aus allen Lungenabschnitten resultierende partikelgrößenabhängige abgeschiedene Fraktion, ist bei Mundatmung minimal im Bereich zwischen etwa 0.1 und 1.0 μm , wie anhand von Untersuchungen über die Inhalation monodisperser Testaerosole erkennbar ist (Heyder, 2004).

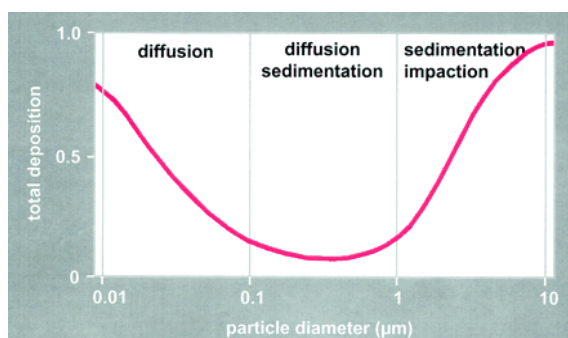


Abbildung 4.1: Gesamt-Abscheideeffizienz im menschlichen Respirationstrakt bei normaler Mundatmung für Kugeln mit der Standarddichte von 1000 kg/m^3 (aus Heyder, 2004, S. 316).

Im unteren Größenregime führt der verstärkte Einfluss der Brown'schen Bewegung zu erhöhten Abscheideraten an den Innenwänden, insbesondere der feinen Atemwegsstrukturen in Verbindung mit den kleinen Strömungsgeschwindigkeiten und der hohen Aufenthaltsdauer. In diesem Bereich der Lunge sind weiterhin aufgrund der

morphologischen und strömungsbedingten Verhältnisse gravitationsbedingte Verluste für Partikel mit einem Durchmesser ab etwa $0.5\ \mu\text{m}$ und verstärkt ab etwa $1.0\ \mu\text{m}$ bis $10\ \mu\text{m}$ von hoher Bedeutung. Größere Partikel dringen nicht mehr in die peripheren Bereiche vor, sondern werden bereits in den oberen Atemwegsstrukturen, in denen hohe Strömungsgeschwindigkeiten vorliegen, durch Trägheitsimpaktion abgeschieden. Die hieraus resultierenden, räumlich stark unterschiedlichen Depositionseffizienzen für die einzelnen Bereiche der Lunge sind in Abb. 4.2 dargestellt, wobei eine Unterteilung in den extrathorakalen Bereich, den oberen und unteren Bronchialbereich, sowie den alveolären Bereich vorliegt.

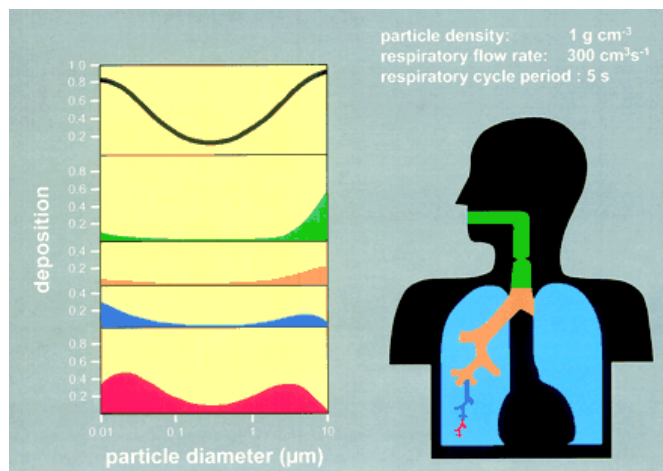


Abbildung 4.2: Abscheideeffizienz in den unterschiedlichen Regionen des menschlichen Respirationstrakt bei normaler Mundatmung für Kugeln mit der Standarddichte von $1000\ \text{kg/m}^3$ ermittelt über das ICRP-Modell (rot: alveolärer Bereich, blau: unterer Bronchialbereich, orange: oberer Bronchialbereich, grün: extrathorakaler Bereich) (aus Heyder, 2004, S. 316).

Neben den morphologischen Verhältnissen in der Lunge hat weiterhin das Atemmuster, d.h. die Atemflussrate und das Atemzugvolumen, einen hohen Einfluss auf die Abscheidecharakteristik von Partikeln im Respirationstrakt. Zunehmende Atemzugvolumina und abnehmende Atemflussraten führen aufgrund der größeren Penetrationstiefe und Aufenthaltszeiten zu deutlich höheren Abscheideeffizienzen, insbesondere im alveolären Bereich durch verstärkte diffusive und sehr stark zunehmende sedimentative Ablagerungsvorgänge (Heyder, 2004; Finlay, 2001; Hinds, 1999; ICRP, 1994; Hofmann und Koblinger, 1990; Yeh et al., 1976; Stahlhofen et al., 1989).

4.2 Lungendepositionsmodelle

Aufgrund der hohen Relevanz für Pharmaapplikation und Expositionsbewertung sind sowohl theoretische als auch experimentelle Untersuchungen zur Partikeldeposition in sehr großem Umfang durchgeführt worden. Entsprechend ist von der Autorin der vorliegenden Arbeit an dieser Stelle nur eine Zusammenfassung, im Wesentlichen basierend auf dem Übersichtsartikeln von Hofmann (2011) sowie Martonen et al. (2005) und den eigenen Spezialkenntnissen auf diesem Themengebiet gegeben. Weiterführende Literatur, die den Publikationen von Hoffmann (2011) und Martonen et al. (2005) entnommen ist, ist an den entsprechenden Stellen eingefügt.

Die mathematische Modellierung der Partikeldeposition im Respirationstrakt stellt eine sehr komplexe Aufgabe dar. So sind die Beschreibung des sich ändernden Strömungsfeldes, überlagert von der Partikelbewegung, notwendig, sowie detaillierte Kenntnisse der morphologischen und morphometrischen Verhältnisse in der Lunge in Abhängigkeit des Dehnungszustands. Bis vor wenigen Jahren war eine solche analytische Abbildung der Partikeldepositionsprozesse aufgrund der zur Verfügung stehenden Methoden noch nicht möglich, bzw. ist auch mit den heutigen rechnergestützten Möglichkeiten sehr komplex. Jedoch ermöglicht bereits die genaue Betrachtung der für die partikelgrößenabhängige Abscheidung in den einzelnen Lungenabschnitten relevanten Mechanismen ein gutes Verständnis und eine Abschätzung des Einflusses der einzelnen Parameter auf die Vorgänge. Folglich können trotz des komplexen Wechselspiels zwischen Partikelgröße, Atemzugvolumen, Atemflussraten und Größe der Lunge verlässliche und hinreichend genaue Aussagen über Ort und Umfang der Partikeldeposition getroffen werden, z.B. für die inhalative Applikation von Medikamenten oder Expositionsabschätzungen (siehe z.B. ICRP, 1994).

Neben dem zugrunde liegenden morphologischen Modell der Lunge (siehe Abschnitt 3.1) stellt die zugrunde liegende Modellklasse den Hauptunterschied zwischen den derzeit für Depositionsbestimmungen verwendeten Modellen dar. Diese beruhen im Wesentlichen auf drei unterschiedlichen Ansätzen: empirisch, deterministisch und stochastisch. Bei empirischen Modellen werden die Gesamt-Partikelabscheidung (z.B. Stahlhofen et al., 1989) oder die lokale Partikelabscheidung in der Lunge (z.B. Ashgarian et al., 1995; Cohen und Ashgarian, 1990; Gonda, 1981; Chan und Lippmann, 1980) über die Anpassung mathematischer Beziehungen an experimentelle Daten ermittelt. Häufig werden sie auch um grundlegende theoretische Zusammenhänge erweitert (sog. semi-empirische Modelle) oder mit anderen Arten von Modellen kombiniert. Die zweite Kategorie von Modellen stellen die sog. deterministischen Modelle dar, die ingenieurtechnische Ansätze für die Simulation der Fluid- und Partikelbewegung nutzen. Es werden vereinfachende Annahmen bezüglich der Atemwegsmorphometrie sowie der Strömungen getroffen, um Partikeltrajektorien über Momentengleichungen zu ermitteln. Neben der Bestimmung der Gesamt- bzw. lokalen Abscheidefraktion kann die Partikeldeposition auch für einzelne Atemwege, eine Bifurkation oder einen bestimmten Abschnitt der Lunge beschrieben werden. In all diesen Modellen werden die Partikelabscheidemuster ausschließlich von den Eingabeparametern bestimmt, im Gegensatz zu der dritten Modellklasse, den sog. stochastischen Modellen. Von einem stochastischen Modell wird gesprochen, wenn eine räumlich zufällige Aufzweigung und Verteilung der Atemwegsstrukturen, sowie eine Verteilung für die Dimensionen der Atemwege innerhalb des physiologisch zu erwartenden Bereichs vorliegen, anstatt konstanter Werte. Jedes Partikel, das aufgegeben wird, durchläuft einen Pfad des Respirationstraktes mit zufällig ausgewählten Parametern, die durchschnittliche resultierende Abscheidewahrscheinlichkeit wird über die Ergebnisse der Gesamtheit der betrachteten Teilchen ermittelt. Dieses Modell wurde erstmals von Koblinger und Hofmann eingeführt und für die Simulation der Partikeldeposition sowohl in der menschlichen als auch in der Rattenlunge eingesetzt (z.B. Hofmann et al., 2000; Koblinger und Hofmann, 1988; Koblinger und Hofmann, 1985).

In den letzten Jahren werden insbesondere für die Untersuchungen komplexer Strömungsmuster auf die Partikeldeposition Computational fluid-particle dynamics eingesetzt. Hier sind die Ergebnisse von CFD-Strömungssimulationen/-berechnungen mit den Ergebnissen für Partikeltrajektorien gekoppelt, Partikel gelten als abgeschieden, wenn sie mit einer Atemwegswand in Kontakt kommen (Comer et al., 2001).

Meist führen aber auch die vergleichsweise deutlich einfacheren empirischen Modelle zu sehr guten und z.B. für die Expositions- und Dosisbestimmung ausreichenden Ergebnissen (z.B. ICRP, 1994). Jede der Modellklassen hat ihre spezifischen Vor- und Nachteile, so dass das am besten geeignete Modell für jede Fragestellung entsprechend den vorliegenden Randbedingungen und Zielgrößen individuell festzulegen ist. Zu den biologischen Parametern gehören insbesondere die Lungenmorphologie und –morphometrie sowie das Atemmuster, zu den physikalischen die Fluidodynamik, die Partikeleigenschaften und die Luftfeuchtigkeit, seitens der technischen Randbedingungen ist z.B. die zur Verfügung stehende Hard- und Software ein entscheidender Faktor.

Weiterhin sind die Größe, Dichte, Form und Konzentration der Partikel, sowie die Zusammensetzung für die Bestimmung der partikelgrößenabhängigen Deposition für die Abbildung entscheidend, wobei die zeitliche und räumliche Überlagerung der einzelnen Mechanismen zu berücksichtigen ist. Der Transport der Partikel in der Lunge beruht in den oberen Atemwegen auf dem Prinzip, dass die Teilchen sich mit der Geschwindigkeit des Fluids bewegen. Für kleinere Partikel mit einer hohen Diffusivität verliert dieser Grundsatz jedoch seine Gültigkeit, hier kann die axiale Geschwindigkeit von der Geschwindigkeit infolge des konvektiven Gastransports abweichen, verbunden mit einer veränderten diffusiven Abscheidung. Ein weiterer Parameter, der Einfluss auf Art und Umfang der einzelnen Depositionsmechanismen hat, ist die Art des Strömungsprofils, z.B. laminar oder turbulent bzw. Pfropfenströmung oder parabolisches Profil.

Bei der Mehrzahl dieser existierenden Ansätze ist die Zielgröße die partikelgrößenabhängige kumulative, d.h. über einen vollständigen Atemzug gemittelte Depositionseffizienz. Es gibt nur wenige Modelle, die zeitlich aufgelöst über den individuellen Inspirations- und Expirationsvorgang die Partikelablagerung betrachten. Entsprechende Ansätze wurden im Kontext der Abbildung bzw. mechanistischer Untersuchungen zu der sog. Aerosolbolusdispersion durchgeführt. Mittels verschiedener Methoden wird hierbei zeit- und orts aufgelöst die diffusive Bolusdispersion von 0.5 µm-Testpartikeln, die nur in sehr geringem Umfang Ablagerungsvorgängen unterliegen, untersucht (Sturm et al., 2007; Park und Wexler, 2007; Rosenthal, 1985; Taulbee et al., 1978). In keinem dieser Modelle wird jedoch das Ablagerungsverhalten für Partikelgrößenverteilungen über den Inhalations- und Exhalationsvorgang betrachtet. Ebenso sind der Autorin keine Ansätze für die zeitaufgelöste Partikelablagerung bei krankhaften Lungenveränderungen bekannt, wie beispielsweise bei obstruktiven Atemwegserkrankungen. Für die Untersuchung des Redepositionsverhaltens endogen in der Lunge generierter Aerosole existieren in der Literatur keine Modelle.

In Abhängigkeit von der Auswahl des Modells sowie der zugrunde gelegten Gleichungen variieren die Ergebnisse für die totale Depositionseffizienz in einem gewissen Rahmen, jedoch zeigen sich für alle Modelle die gleichen Trends in Abhängigkeit von der Partikelgröße und dem Atemmuster. Der Vergleich theoretischer und experimenteller Ergebnisse zeigt quantitativ relativ gute Übereinstimmungen, so dass über entsprechende Modelle valide Aussagen möglich sind. Genauere rechnerische Bestimmungen der Partikelablagerung sind auch in nächster Zukunft trotz steigender Rechnerleistung mit derzeitigen Verfahren aufgrund der fehlenden morphologischen Informationen nicht möglich. Eine weitere wichtige Einschränkung bei der Anwendung von Lungendepositionsmodellen stellt die fehlende Möglichkeit der experimentellen Validierung auf Ebene einzelner Atemwege bzw. Atemwegsgenerationen dar, dies ist lediglich für die gesamte Lunge bzw. grobe Regionen möglich.

5 Charakterisierung exhalierter Aerosole

5.1 *Physikalische Charakterisierung*

5.1.1 Versuchsaufbau

Für die Anwendung exhalierter Partikel für diagnostische Zwecke ist die Kenntnis der Abhängigkeiten der pulmonalen Aerosolgeneration und des Aerosoltransportes von den respirationsphysiologischen Parametern (Atemzugvolumen, Atemflussraten) eine entscheidende Voraussetzung.

Die Grundlage für die physikalische Charakterisierung der Partikel im Exhalat bildet daher die online-Erfassung der Partikelanzahlkonzentration und Partikelgrößenverteilung bei gleichzeitiger Messung des Atemvolumenstromes. Für genaue Rückschlüsse auf die Mechanismen und Orte der endogenen Aerosolentstehung ist dabei die Möglichkeit der Analyse individueller Atemzüge von besonderer Bedeutung. Dies wurde zum einen über eine sekundliche Messwerterfassung realisiert, die darüber hinaus auch die Auswertung des zeitlichen Verlaufs der Partikeleigenschaften über den Exhalationsvorgang ermöglicht. Zum anderen erfolgte die Integration der Messgeräte patientennah und unter Einhaltung möglichst geringer Totraumvolumina, auch um Änderungen der physikalischen Eigenschaften der exhalierten Aerosole zu vermeiden.

Die physikalischen Eigenschaften der Aerosole werden mit unterschiedlichen Methoden bestimmt, deren Auswahl auf bereits vorhandenen Kenntnissen zu der Größenverteilung und Konzentration exhalierter Partikel beruht. Nach diesen beschränkt sich der Durchmesser endogen generierter und exhalierter Aerosole unter terrestrischen Bedingungen auf einen Bereich $< 5 \mu\text{m}$ mit einer überwiegenden Anzahlfraktion im submikronen Bereich. Für die Konzentration sind, übereinstimmend mit eigenen Voruntersuchungen, insgesamt sehr geringe Werte im Bereich von 1 bis maximal ca. 10000 Partikel pro Liter zu erwarten. Um diese geringe Anzahl an Zählereignissen mit ausreichender statistischer Sicherheit aufzuzeichnen, ist der Einsatz von Geräten aus dem Bereich der Reinraumüberwachung mit einem hohen Messvolumenstrom und Einzelpartikelerfassung notwendig.

Der Versuchsaufbau für eine zeitaufgelöste Analyse der physikalischen Eigenschaften exhalierter Aerosole besteht im Wesentlichen aus den folgenden drei Komponenten:

- Kondensationskernzähler für die Erfassung der Gesamtanzahl der Partikel:

Dieses Verfahren nutzt aus, dass in einem übersättigten Dampf vorliegende feine Partikel durch heterogene Kondensation zu optisch einfach detektierbaren Mikropartikeln von bis zu $10 \mu\text{m}$ heranwachsen. Hierfür wird der in einem ersten Schritt mit Wasser oder Alkohol gesättigte Aerosolstrom, meist mittels Kühlrohr, abgekühlt und nach ausreichender Wachstumsdauer einem optischen Sensor zugeführt. Dieser erfasst und zählt die bei der Durchquerung des Strahlengangs einer Laserdiode von den Partikeln ausgesendeten Streulichtimpulse.

Für die Untersuchungen wird zum einen ein kommerziell erhältlicher Kondensationskernzähler, Modell 3760 der Firma TSI, Aachen, verwendet, der Partikel von $0.01 - 3 \mu\text{m}$ erfasst. Bei einem Probenahmestrom von 1.4 l/min liegt der messbare Konzentrationsbereich hier bei 0 bis $10^4 \text{ Partikel/cm}^3$. Zum anderen kommt ein neuartiger, in dieser Arbeit entwickelter, atemwasserdampfbasierter Partikelzähler zur Anwendung. Dieser detektiert bei einem Messvolumenstrom von 1.0 l/min Partikel oberhalb $0.1 \mu\text{m}$ bis hin zu mehreren μm (Abschnitt 5.1.2). Die maximale Zählrate des Gerätes beträgt 1000 Partikel/s .

- Laserpartikelspektrometer für die Bestimmung der Partikelgrößenverteilung:

Optische Partikelzähler zählen und klassifizieren Partikel entsprechend ihrer größenabhängigen Streulichtintensität. Hierfür durchläuft der Aerosolstrom eine Probenkammer, durch die ein leistungsstarker Laserstrahl projiziert wird. Das von den Partikeln emittierte Streulicht wird über eine Empfangsoptik aufgenommen und für die Größenklasseneinordnung in einen der Größe des detektierten Partikels entsprechenden Spannungsimpuls umgewandelt.

Es wurde ein optisch hoch auflösender Reinraumpartikelsensor des Typs LASAIR II-110, Fa. PMT, Heimsheim, mit einem Probenahmestrom von 28.3 l/min in den Messaufbau integriert. Das Gerät deckt den für die Exhalatanalyse relevanten Größenbereich zwischen $0.1 - 5 \mu\text{m}$ ab, aufgeteilt in 6 Kanäle: $0.1 - 0.2$, $0.2 - 0.3$, $0.3 - 0.5$, $0.5 - 1.0$, $1.0 - 5.0$, $> 5.0 \mu\text{m}$.

Für die genauere Bestimmung der exhalierten Massenströme wurden ergänzend auch Messungen mit einem zweiten Spektrometer (LASAIR 550, Fa. PMT, Heimsheim) durchgeführt. Dieses Gerät verfügt über eine besser geeignete Aufteilung der Größenklassen im supermikronen Bereich, jedoch bei einer deutlich geringeren zeitlichen Auflösung von 6 s . Der Messvolumenstrom beträgt 28.3 l/min und die Klassierung der Tröpfchen erfolgt in dem Bereich von 1 bis $100 \mu\text{m}$, aufgeteilt in 8 Kanäle: $1 - 3$, $3 - 5$, $5 - 10$, $10 - 20$, $20 - 30$, $30 - 50$, $50 - 100$, $> 100 \mu\text{m}$.

- Laminare Durchflusssensoren für die Messung der Atemflussraten:

Das Messprinzip dieses Gerätes beruht auf dem Gesetz von Hagen-Poiseuille, demzufolge der Druckverlust in einer laminaren Rohrströmung proportional dem Durchflussvolumenstrom ist. Für die Realisierung eines laminaren Strömungsprofils wird die gesamte Luftmenge über einen weiten Querschnitt, bestehend aus einer Vielzahl sehr schmaler paralleler Röhrchen, geleitet. Nach der Kalibrierung des Systems unter den jeweiligen Messbedingungen, wird die zwischen Ein- und Auslass der Messzelle ermittelte Druckdifferenz über einen Druckumwandler in ein der vorliegenden Durchflussrate entsprechendes Spannungssignal umgewandelt.

Zum Einsatz kommen zwei laminare Durchflusssensoren nach Fleisch des Typs 1 (Fa. Dr. Fenyves und Gut, Hechingen) mit einer oberen Grenze für die Aufrechterhaltung eines laminaren Strömungsprofils von 72 l/min .

Der Versuchsaufbau für die physikalische Charakterisierung exhalierter Aerosole ist in Abbildung 5.1 dargestellt.

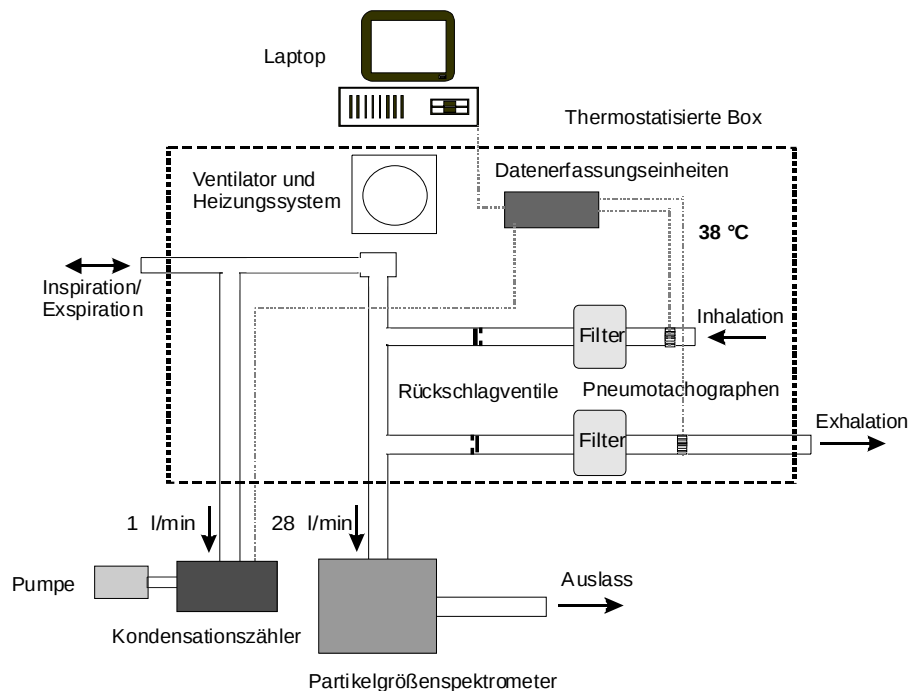


Abbildung 5.1: Experimenteller Aufbau für die zeitlich hoch aufgelöste, simultane Messung der Partikelkonzentration, Partikelgrößenverteilung und Atemflussraten über den Exhalationsvorgang.

Der Proband atmet in sitzender Position mittels eines Mundstücks, das mit einem Schlauchsystem (Tygon S-50-HL, ID 19 mm, Fa. LIQUID-scan, Überlingen) verbunden ist, über die Versuchseinrichtung ein und aus. Die Inhalation und die Exhalation erfolgen über zwei unterschiedliche Zweige (Inhalation: Länge 0.65 m, ID 19 mm; Exhalation: Länge 0.5 m, ID 19 mm), deren Trennung über Rückschlagventile (Model 1954, Fa. Intersurgical, Sankt Augustin) gewährleistet ist. In beiden Kanälen ist ein Durchflusssensor integriert, so dass unter Berücksichtigung der Probenahmevolumenströme der Partikelmessgeräte die Atemflussraten berechenbar sind. Die resultierende Atemflusskurve wird simultan auf einem Computermonitor ausgegeben, um die Testpersonen bei der Ausführung der vorgegebenen Atemmanöver zu unterstützen.

Die Bestimmung der Partikelkonzentration erfolgt in einem Teilvolumenstrom von 1.0 bzw. 1.4 l/min, während für die Analyse der Größenverteilung der Aerosole im Allgemeinen der gesamte Exhalatstrom über ein Laserspektrometer geleitet wird. Die Verzögerungszeit beträgt für die Synchronisation der Atemflussraten mit den Werten für die Partikelkonzentration 3 s (1 s für die Zuleitung, 2 s für die Ansprechzeit der Geräte) und für die Größenverteilung 1 s (0.5 s für die Zuleitung, 0.5 s für die Ansprechzeit der Geräte).

Da die Partikelkonzentration der Umgebungsluft mehrere Größenordnungen über der zu erwartenden Konzentration endogen generierter Partikel im Exhalat liegt, ist die Vermeidung einer Kontamination des Messsystems mit Außenluft sicherzustellen. Daher erfolgen sowohl Inspiration als auch Expiration über Absolutfilter (HEPA-Filter = High Efficiency Particulate Air Filter) und der Proband trägt eine Nasenklemme, um einer unbeabsichtigten nasalen Inhalation vorzubeugen. Vor dem Messbeginn dient eine

2-minütige Atemphase zum Austausch der mit Fremdpartikeln aus der Umgebung kontaminierten Luft in der Lunge mit gefilterter Reinluft, so dass im Anschluss nur noch endogen in der Lunge generierte Partikel gemessen werden.

Zur Vermeidung von Wasserdampfkondensation aus der gesättigten Ausatemluft befinden sich das gesamte Schlauchsystem und die Durchflusssensoren in einem auf 38 °C thermostatisierten Behälter. Zusätzlich wird der Probenahmestrom des Laserspektrometers ausreichend mit Raumluft von sehr geringer Feuchte verdünnt, um ein Kondensationswachstum der exhalieren Partikel infolge des Druckabfalls in der Fokussierungsdüse des Gerätes zu vermeiden.

5.1.2 Entwicklung eines atemwasserdampfbasierten Kondensationskernzählers

Kondensationskernzähler sind in zahlreichen Ausführungen kommerziell erhältlich. In vielen Geräten ist jedoch der Probenahmestrom sehr gering, so dass für die zu erwartenden sehr niedrigen Emissionsraten im Exhalat eine zeitlich hoch aufgelöste Erfassung der Zählereignisse mit ausreichender statistischer Sicherheit nicht möglich ist. Des Weiteren kommen häufig gesundheitsschädliche und brennbare Flüssigkeiten (Butanol oder Iso-Propanol) als Kondensationsmedium zur Anwendung, so dass diese Geräte weder den sicherheitstechnischen Anforderungen für ein Medizinprodukt noch für Messungen unter variablen Gravitationsbedingungen in Parabelflügen genügen. Überdies sind Kondensationskernzähler aufgrund des hohen Aufwands zur Sättigung und nachfolgenden kontrollierten Abkühlung des Probenahmestroms sehr teuer, so dass die Entwicklung eines neuen, für die vorliegende Messaufgabe geeigneten Partikelsensors notwendig ist.

Im vorliegenden Kontext der Bestimmung der Partikelanzahl exhalierter Aerosole bietet sich ein Detektionsverfahren an, welches den Wasserdampf aus der bereits wasserdampfgesättigten Ausatemluft als Kondensationsmedium für das Partikelwachstum ausnutzt. Eine im Vergleich zu einer konvektiven Kühlung technisch einfache und auf kleinem Raum umsetzbare Möglichkeit zur Realisierung der hierfür notwendigen Übersättigungsverhältnisse ist die adiabatische Expansion des Exhalatstroms. Ein Ausführungsbeispiel zeigt die Abbildung 5.2.

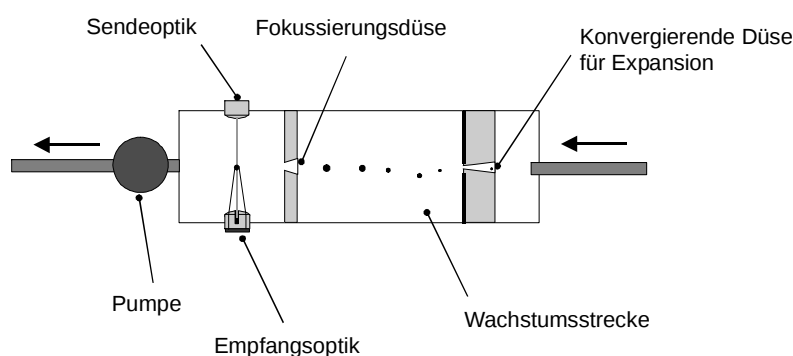


Abbildung 5.2: Aufbau des atemwasserdampfbasierten Kondensationskernzählers (modifiziert nach Hohlfeld et al., 2009).

In diesem Verfahren wird der über eine Pumpe angesaugte Probenahmenvolumenstrom über eine feine konvergierende Düse adiabatisch expandiert. Die daraus resultierende Abkühlung des Exhalats führt zu einer Übersättigung mit Wasserdampf und folglich dessen Kondensation auf die vorhandenen Tröpfchen. In der sich anschließenden Wachstumsstrecke erfolgt das Partikelwachstum auf eine für die sichere Erfassung der Partikel notwendige Größe von etwa 5 μm . Nach der hierfür nötigen Aufenthaltsdauer wird das Aerosol mittels einer zweiten, deutlich größeren, Düse fokussiert und einer optischen Detektionseinheit zugeführt. Diese erfasst und zählt die bei der Durchquerung des Strahlengangs einer Laserdiode von den Partikeln ausgesendeten Streulichtimpulse mittels eines Photodetektors in der Empfangsoptik, während der primäre Lichtstrahl in einer Lichtfalle absorbiert wird.

Für die Dimensionierung der Expansionsdüse und der Wachstumsstrecke des Zählers werden die im Exhalat vorliegenden Eigenschaften der Tröpfchen- und Gasphase herangezogen. Die Ausatemluft ist aufgrund der großen inneren Oberfläche der Lunge, an der Wasserdiffusion stattfindet, nahezu vollständig gesättigt und weist eine Temperatur von maximal 36 °C auf (Popov et al., 2007). Aufgrund von Wasserdampfkondensation in der teilweise nicht temperierten Zuleitung der Messgeräte und der Wasserdampfdiffusion an die nach der Inhalation trockener Luft nicht wasserdampfgesättigten Oberflächen des Schlauchsystems, sinkt die relative Feuchte bei Erreichen des Messgerätes auf einen Wert von ca. 90 % ab, so dass die Partikeldetektion deutlich erschwert ist. Die folgenden Berechnungen werden demzufolge für eine relative Feuchte im Bereich zwischen 85 und 100 % und eine Temperatur des Exhalats von 36 °C durchgeführt.

Im Gegensatz zur Gasphase sind die genaue Zusammensetzung und die physikalischen Eigenschaften der exhalieren Tröpfchen, insbesondere die Oberflächenspannung und die Viskosität nicht genau bekannt, so dass für die folgenden Berechnungen zu dem Kondensationswachstum der Partikel vereinfachend die Kenngrößen für reines Wasser zugrunde gelegt werden. Diese Betrachtung führt zu einer sehr konservativen Abschätzung der kritischen Teilchengröße d^* (der untersten Teilchengröße, bei der keine Verdampfung des Tröpfchens infolge des Kelvin-Effekts eintritt), da die im Vergleich zu reinem Wasser tröpfchenstabilisierenden Effekte, wie sie im realen Surfactant vorliegen, nicht berücksichtigt sind. Diese sind einerseits durch die Dampfdruckerniedrigung an der Tröpfchenoberfläche aufgrund des Gehalts an Elektrolyten und andererseits durch die oberflächenspannungsreduzierende Wirkung der in der Lungenflüssigkeit vorliegenden Lipide bedingt.

Mit Hilfe der Kelvin-Gleichung, den Ausdrücken für das Kondensationswachstum von Partikeln in übersättigter Umgebung und den allgemeinen Beziehungen für den Dampfdruck gasförmiger Phasen wird die Beziehung zwischen der im Exhalat vorliegenden Feuchte, dem über die adiabatische Expansion zu realisierenden Sättigungsverhältnis und der sich daraus ergebenden kritischen Teilchengröße ermittelt (Hinds, 1999).

Hierbei ist zu beachten, dass zum einen die Abkühlung der Tröpfchen bei der Expansion gegenüber der umgebenden Gasphase deutlich verlangsamt ist, und zum anderen aufgrund der bei größeren Sättigungsverhältnissen durch das schnelle Wachstum frei werdenden Kondensationswärme des Dampfes, die Tröpfchentemperatur nach der adiabatischen Expansion z.T. deutlich oberhalb der Umgebungstemperatur T_∞ liegt. Basierend auf dem Gleichgewicht zwischen Wärmezufuhr durch die

Wasserdampfkondensation und konvektiver Wärmeabgabe an die kältere Umgebung stellt sich eine konstante Temperaturerhöhung ein, die unabhängig von der Teilchengröße der Partikel ist. Diese führt zu einem Anstieg des Dampfdruckes an der Tröpfchenoberfläche und damit verbunden einer Zunahme der kritischen Teilchengröße und einem langsameren Wachstum. Demzufolge resultiert auch die Annahme einer Temperatur von 36 °C, die dem maximal vorliegenden Wert für die Ausatemluft entspricht, aufgrund des exponentiellen Anstiegs des Dampfdruckes in konservativen Annahmen für das Kondensationswachstum der exhalieren Aerosole.

Für Sättigungsverhältnisse zwischen 0 - 5 kann die resultierende konstante Temperaturerhöhung während des Teilchenwachstums vereinfacht nach der folgenden Beziehung ermittelt werden (Hinds, 1999):

$$T_d - T_\infty = \frac{(6.65 + 0.345T_\infty + 0.0031T_\infty^2)(S - 1)}{1 + (0.082 + 0.00782T_\infty)S}. \quad (5.1)$$

Für die Berechnung der kritischen Teilchengröße d^* (Hinds, 1999) unter den vorliegenden Umgebungsbedingungen nach der Expansion wird dementsprechend die sich durch die Temperaturerhöhung einstellende Temperatur T_d an der Tröpfchenoberfläche zugrunde gelegt:

$$S^* = \frac{p_d}{p_\infty} = \exp\left(\frac{4\sigma M}{\rho R T_d d^*}\right). \quad (5.2)$$

Hierbei stehen p_d für den Dampfdruck an der Tropfenoberfläche, p_∞ für den Dampfdruck in der Umgebung, M für das Molekulargewicht und ρ für die Dichte des Kondensationsmediums sowie R für die universelle Gaskonstante.

Somit sind für die Aktivierung aller im Exhalat enthaltenen Partikel, also von Teilchen > 100 nm, zum Kondensationswachstum hohe Übersättigungsverhältnisse von mindestens 1.2 zu realisieren (Abb. 5.3). Sehr große Sättigungsverhältnisse im Bereich oberhalb 1.5 und damit verbunden hohe Düsenaustrittsgeschwindigkeiten sind zu vermeiden, um zum einen homogene Nukleation sicher auszuschließen und zum anderen Partikelverluste durch Impaktion in der zylindrischen Wachstumsstrecke zu minimieren.

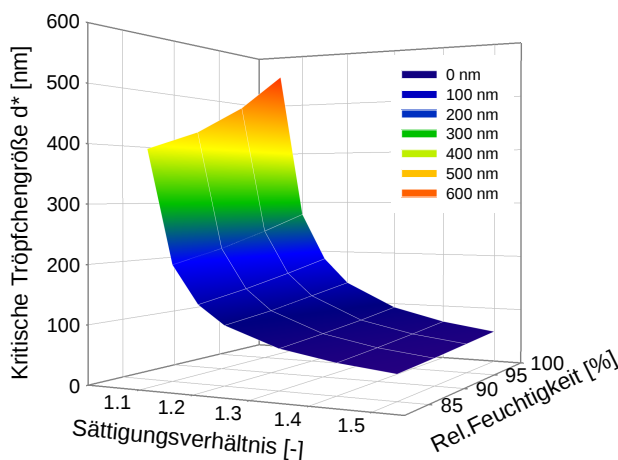


Abbildung 5.3: Kritische Tröpfchengröße in Abhängigkeit der im Exhalatstrom vorliegenden relativen Feuchte und des Sättigungsverhältnisses nach der Expansion.

Die für die entsprechenden Sättigungsverhältnisse mittels adiabatischer Expansion zu realisierenden Umgebungstemperaturen, bzw. entsprechenden Expansionsverhältnisse, sind über die Gleichungen für den Dampfdruck, die Temperatur an der Tröpfchenoberfläche (Gl. 5.1 und 5.2) und die Beziehung für die adiabatische Zustandsänderung berechenbar:

$$\frac{T_2}{T_1} = \left(\frac{p_2}{p_1} \right)^{\frac{\kappa-1}{\kappa}}. \quad (5.3)$$

Unter den zugrunde liegenden Randbedingungen ergibt sich ein maximaler Temperaturabfall von 36 auf 30 °C, so dass unter normalen Außenbedingungen mit Temperaturen von etwa 20 °C keine Wiedererwärmung des Exhalatstromes stattfindet.

Die Wachstumsdauer der aktivierten Partikel aus dem Exhalat bis auf einen sicher detektierbaren Durchmesser von 5 µm berechnet sich entsprechend der Gleichung für die Partikelwachstumsrate im Größenbereich oberhalb der mittleren freien Weglänge eines Luftmoleküls, λ , (Hinds, 1999) nach

$$t = \frac{(d_{T,2}^2 - d_{T,1}^2) R \rho_p}{8 D_v M \left(\frac{p_\infty}{T_\infty} - \frac{p_d}{T_d} \right) \phi} \quad \text{für } d_p > \lambda, \quad (5.4)$$

wobei ϕ für den Fuchs-Korrekturfaktor und D_v für den Diffusionskoeffizienten des Wasserdampfes in der Luft stehen.

Die Wachstumsdauer ist im Wesentlichen nur eine Funktion des vorliegenden Sättigungsverhältnisses und durch die Wachstumsraten der Partikel im supermikronen Bereich bestimmt. Für Sättigungsverhältnisse oberhalb 1.2 beträgt sie maximal 0.13 s (Abb. 5.4).

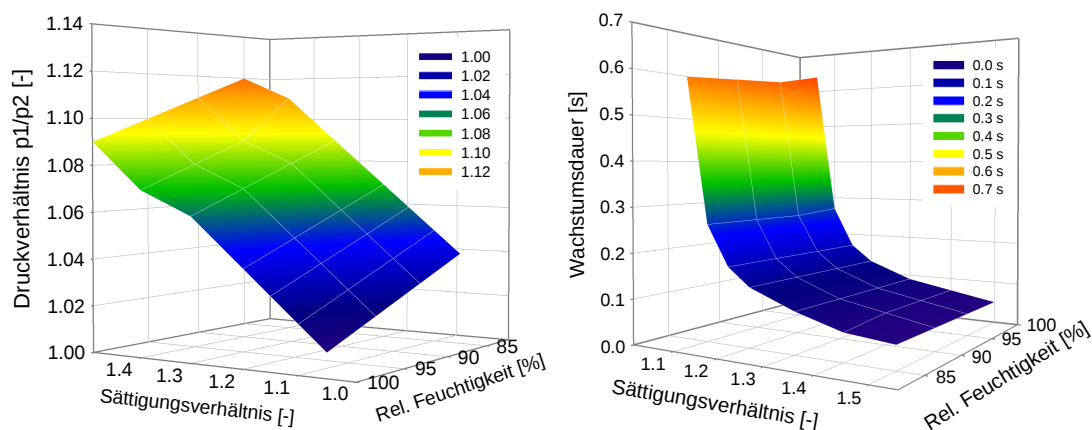


Abbildung 5.4: Links: Notwendige Expansionsverhältnisse für die Düse zur Realisierung unterschiedlicher Übersättigungen in Abhängigkeit der im Exhalat vorliegenden relativen Feuchte. Rechts: Wachstumsdauer der aktivierten Partikel in Abhängigkeit von der im Exhalatstrom vorliegenden Feuchte und des Sättigungsverhältnisses nach der Expansion.

Der für die Realisierung des gewünschten Expansionsverhältnisses notwendige Druckabfall über der Düse wird vereinfacht gleich dem dynamischen Druck der Strömung im Austrittsquerschnitt der Expansionsdüse gesetzt, da hier die maximale Strömungsgeschwindigkeit auftritt und die Verluste in Folge der Wandreibung gegenüber dem dynamischen Druckverlust gering sind:

$$\Delta p_v = \frac{1}{2} \rho_g v^2 . \quad (5.5)$$

Ein für die zeitlich hoch aufgelöste Erfassung der Tröpfchenanzahl im Exhalat geeigneter Volumenstrom liegt bei 1 l/min, größere Ströme sind zu vermeiden, um das Auftreten von Koinzidenzen im Messvolumen des optischen Detektors auszuschließen. Mit der Vorgabe des Probenahmestroms und der über den dynamischen Druck in der Düse berechneten Strömungsgeschwindigkeit ist der Durchmesser der Düse eindeutig festgelegt und liegt bei 0.5 mm.

Für eine Ermittlung der unter diesen Randbedingungen notwendigen Dimensionen der Kondensationsstrecke wird die Aerosolströmung nach dem Austritt aus der Düse vereinfacht als sog. turbulenter Freistrahл betrachtet. In der genauen Definition ist darunter eine aus einer Düse mit dem Durchmesser d_0 in die freie Umgebung, d.h. ohne unmittelbare Wandbegrenzung, austretende turbulente Strömung zu verstehen. Am Rand dieses Freistrahls wird Luft aus der ruhenden Umgebung mitgerissen, so dass sich der Volumenstrom stromabwärts erhöht. Dies führt zu einer kegelförmigen Verbreiterung des Strahls, wobei sich die Strahlbreite proportional dem Abstand x von der Düse verhält (Schlichting und Gersten, 1997). Für den sog. Ähnlichkeitsbereich ($x > 10 d_0$), in dem der Freistrahл voll ausgebildet ist, ergeben sich für das Geschwindigkeitsfeld (Koch, 1994; Abramovich, 1963) in axialer Richtung:

$$v(x, r) = v_0 \frac{6.57}{x/d_0} \frac{1}{(1 + 0.25\eta^2)^2} \quad \text{mit } \eta = 15.17 r/x, \quad (5.6)$$

sowie für das Temperaturprofil:

$$\frac{T(x, r) - T_\infty}{T_A - T_\infty} = \frac{5.17}{x/d_0} \frac{1}{(1 + 0.25\eta^2)^2} . \quad (5.7)$$

In diesen Gleichungen stehen T_A für die Austrittstemperatur des Gases aus der Düse, x für die axiale Entfernung von der Düse, v_0 für die Austrittsgeschwindigkeit aus der Düse und d_0 für die Düsenweite.

Mittels dieser Gleichung wird das radiale Strömungsprofil für unterschiedliche Abstände x von der Expansionsdüse ermittelt. Die Axialgeschwindigkeit nimmt in radialer Richtung in Form einer Glockenkurve und in axialer Richtung, d.h. mit zunehmendem Abstand von der Düse, potentiell mit x^{-1} ab (Abb. 5.5, Gl. 5.6).

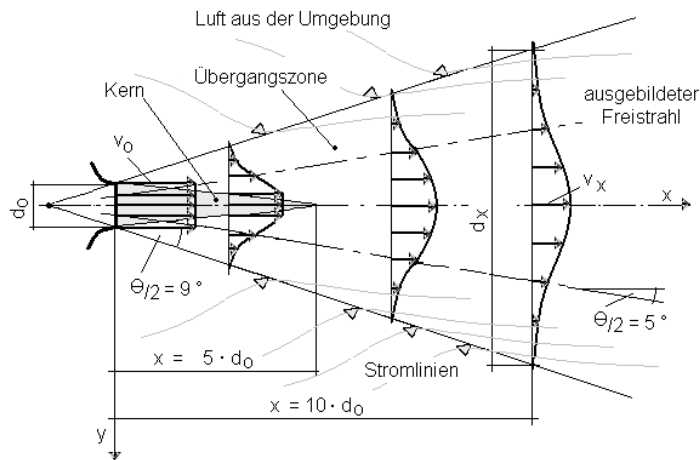


Abbildung 5.5: Ausbreitungsprofil eines axialsymmetrischen turbulenten Freistrahls (aus Wikipedia: Freistrah, 2012).

Im vorliegenden Fall ist jedoch die radiale Ausdehnung des Strömungsprofils durch den konzentrisch zur Düse angeordneten Zylinder begrenzt, so dass die Luftfeinmischung und die Ausbreitung des Strahls behindert sind. Folglich sind die Randbedingungen für die im Folgenden durchgeführten Berechnungen nicht vollständig erfüllt, so dass die ermittelten Werte nicht exakt der Realität entsprechen. Sie ermöglichen jedoch eine gute Abschätzung für die notwendigen Dimensionen der Kondensationsstrecke.

Werden ein Öffnungswinkel von 10° (siehe Abb. 5.5) und die maximale Axialgeschwindigkeit, d.h. die Geschwindigkeit auf der Mittelachse (Abb. 5.6), bei der die Aufenthaltszeit am geringsten ist, zugrunde gelegt, ergibt sich für die zu realisierende Wachstumsdauer eine notwendige Länge der Kondensationsstrecke von 9 cm und unter Berücksichtigung eines Sicherheitsfaktors von 2 ein Wert von 18 cm.

Für die Bestimmung des notwendigen Durchmessers des Zylinders, um Impaktionsverluste an den Zylinderinnenwänden infolge der kegelförmigen Ausbreitung des Freistrahls zu vermeiden, wird der Zusammenhang zwischen der radialen und axialen Strahlausbreitung herangezogen. Die bei einem Durchmesser von 12 mm auftretende radiale Geschwindigkeit beträgt maximal 0.05 m/s, so dass Impaktionsverluste durch die Strömungsumlenkung an den begrenzenden Wänden auszuschließen sind. Für die Einhaltung geringer Totraumvolumina sind größere Durchmesser nicht geeignet.

Die Bestimmung des Sättigungsprofils in der Wachstumstrecke über das sich einstellende Temperaturprofil (Gl. 5.7) zeigt, dass bereits nach einer Wegstrecke von 10 mm über den gesamten Strömungsquerschnitt eine Übersättigung erreicht ist, ab etwa 60 mm liegt kontinuierlich ein Sättigungsverhältnis oberhalb 1.2 vor (Abb. 5.6).

Um Wasserdampfdiffusion aus dem Exhalatstrom an die Oberfläche der Wachstumstrecke und die damit verbundene Reduktion der Übersättigung zu vermeiden, ist der Zylinder mit einem Wasser getränkten, stark absorbierenden Filtermaterial ausgekleidet. Wasserdampfkondensation an den Wänden der Wachstumstrecke beeinflusst die Messungen nicht, das Kondensat wird am unteren Ende der Strecke aufgefangen.

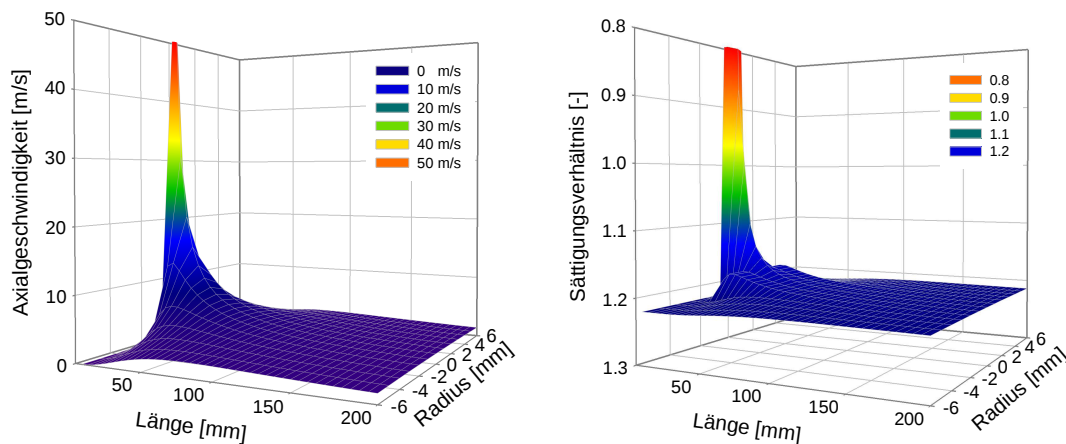


Abbildung 5.6: Geschwindigkeitsprofil (links) und Sättigungsprofil (rechts) des Exhalatstroms in axialer Richtung nach dem Austritt aus der Expansionsdüse.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde ein erster Prototyp des atemwasserdampfbasierten Kondensationskernzählers fertig gestellt. Mit diesem wurden erste grundlegende Tests mit Aerosolen unterschiedlicher Teilchengrößen (DEHS-Partikel) durchgeführt, um die Funktionsfähigkeit der Detektoreinheit zu überprüfen und das detektierbare Partikelgrößenspektrum zu ermitteln. Die Aufzeichnung der Impulse erfolgte mittels eines Pulshöhenanalysators, dessen Messbereich sich über 2.5 V aufgeteilt in 500 Kanäle erstreckt. Aus den Untersuchungen geht hervor, dass die untere Detektionsgrenze der Einheit bei etwa $2\ \mu\text{m}$ liegt (Abb. 5.7).

Nach der Integration des Zählers in den experimentellen Aufbau im nächsten Schritt, zeigt sich für einen nahezu vollständig mit Wasserdampf gesättigten Exhalatstrom ein deutliches Kondensationswachstum auf mehrere μm , das für die sichere Erfassung der ausgeatmeten Aerosole ausreichend ist (Abb. 5.7).

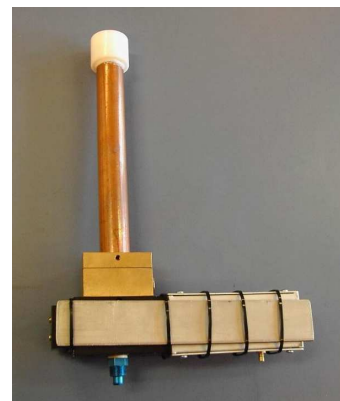
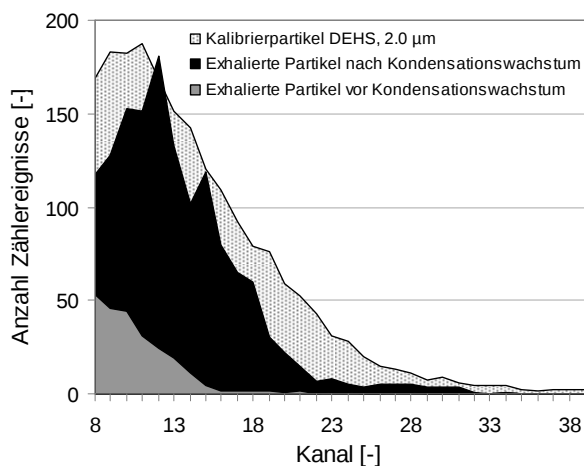


Abbildung 5.7: Links: Spektrum des Pulshöhenanalysators für ein monodisperses Testaerosol mit $d_p = 2\ \mu\text{m}$ (weiß schraffierte Fläche), das Spektrum eines exhalieren Aerosols (graue Fläche) und das Spektrum eines exhalieren Aerosols nach adiabatischer Expansion und Kondensationswachstum (schwarze Fläche). Rechts: Prototyp des atemwasserdampfbasierten Kondensationskernzählers.

5.1.3 Versuchsdurchführung

5.1.3.1 Variation der atemphysiologischen Parameter

Ziel der Untersuchungen im Rahmen der Pilotstudie an sechs gesunden Testpersonen ist es, erste richtungsweisende Erkenntnisse zu den Vorgängen der endogenen Aerosolentstehung in der menschlichen Lunge zu gewinnen und darauf aufbauend ein geeignetes Konzept für die Durchführung umfangreicherer Studien am gesunden und lungenkranken Menschen zu entwickeln. Hierzu gehören insbesondere die Ermittlung der wesentlichen respirationsphysiologischen Einflussgrößen auf die Eigenschaften der ausgeatmeten Partikel und eine erste Abschätzung der intra-individuellen Reproduzierbarkeit der Messergebnisse.

Die exhalierten Aerosole werden für die Testpersonen unter Variation des Atemmusters mittels des Kondensationskernzählers TSI 3760 und des Laserspektrometers LASAIR II-110 physikalisch charakterisiert.

Für eine Einschätzung des Einflusses der unterschiedlichen atemphysiologischen Parameter auf den emittierten Aerosolstrom wird in einem ersten Manöver aus der Ruheatmung heraus bis zur maximalen Inspirationstiefe eingeatmet, im zweiten Teil erfolgt eine maximale Ausatmung bis zum Residualvolumen. Hier liegt die Annahme zugrunde, dass eine tiefe Inhalation durch Rekrutierung zusätzlicher Atemwege und eine tiefe Exhalation durch eine erhöhte Verschlusswahrscheinlichkeit terminaler Atemwegsstrukturen zu einer verstärkten Aerosolgenerierung führen.

Aufgrund der zu erwartenden komplexen Vorgänge des Kollapses peripherer Atemwege während der Exhalation und der Wiedereröffnung bei der Inhalation, ist für die systematische Untersuchung der verschiedenen Parameter jedoch eine gleichförmige Atmung sinnvoll, um die Anzahl potentieller weiterer Einflussgrößen zu minimieren. Daher wird bei der Durchführung dieser Atemmanöver nur eine Variable während mehrerer aufeinander folgender Atemzüge geändert, während alle anderen konstant bleiben. Der Einfluss folgender atemphysiologischer Größen auf die Eigenschaften der exhalierten Aerosole wird systematisch betrachtet:

- Atemtiefe: Unter der Annahme, dass die Wiedereröffnung peripherer Atemwegsstrukturen ein wesentlicher Mechanismus der endogenen Aerosolgeneration ist, ist ein Einfluss des Atemzugvolumens bzw. der Atemtiefe auf den exhalierten Aerosolstrom zu erwarten.
- Inspirations- und Expirationsgeschwindigkeit: Ein weiterer denkbarer Mechanismus der Aerosolentstehung ist eine Tröpfchenbildung infolge der Scherung an der Luft-Flüssigkeitsgrenzschicht. Dieser erscheint jedoch angesichts der bei normaler Atmung vorliegenden geringen Strömungsgeschwindigkeiten in den Atemwegen, sowohl während der Inhalation als auch der Exhalation, eher unwahrscheinlich. Die Untersuchung des Einflusses der Atemflussraten liefert neben Erkenntnissen zu den Prozessen der Tröpfchengeneration auch erste Hinweise zu den Vorgängen des Aerosoltransports in der Lunge.
- Atemlage: Untersuchungen unter Variation der endinspiratorischen und endexpiratorischen Atemlage ermöglichen Rückschlüsse auf den Einfluss der

Rekrutierung terminaler Atemwege bei der Inhalation bzw. des induzierten Atemwegsverschlusses bei der Exhalation auf den emittierten Partikelstrom.

- Atemwegsdruck: Ziel der Aerosolcharakterisierung bei Atemmanövern gegen einen kontinuierlich positiven Atemwegsdruck (realisiert mittels aktiver Luftversorgung über den Inspirationszweig und der Integration von sog. PEEP-Ventilen im Inhalations- und Exhalationszweig) ist, die über den Exhalationsvorgang auftretende Verschlusswahrscheinlichkeit der terminalen Atemwegsstrukturen zu reduzieren.

5.1.3.2 Aerosolcharakterisierung bei gesunden und lungenkranken Menschen

Mit Hilfe der Erkenntnisse aus der im Vorfeld durchgeführten Parameterstudie wird ein Ablaufprotokoll für die systematische Charakterisierung endogen generierter exhalierter Aerosole im Rahmen klinischer Studien entwickelt.

Der Fokus der Untersuchungen liegt auf der Bestimmung des Einflusses der Atemtiefe auf die Partikelemission und der Reproduzierbarkeit der Messergebnisse sowohl für den gesunden Menschen als auch Patienten mit obstruktiver Atemwegserkrankung. Aus verschiedenen Untersuchungen ist bekannt, dass verschiedene Lungenkrankheiten und insbesondere auch sehr frühe Veränderungen zu einem verstärkten Atemwegsverschluss führen (Milic-Emili et al., 2007; McCarthy et al., 1972). Des Weiteren treten auch Änderungen der Geometrie der terminalen Atemwegsstrukturen und der rheologischen Eigenschaften des Surfactantfilms, vor allem der Oberflächenspannung auf (Griese et al., 2004; Griese, 1999; Dargaville et al., 1996), so dass für die erkrankte Lunge Unterschiede in der Tröpfchenemissionscharakteristik hinsichtlich Partikelanzahl und/oder Größenverteilung zu erwarten sind.

Um dieser Hypothese nachzugehen, werden in einer Studie für 16 gesunde Nichtraucher (20 – 63 Jahre, normale Lungenfunktion) und 33 Personen mit leichter bis sehr schwerer COPD, d.h. einer starken Obstruktion der peripheren Atemwege, die exhalieren Aerosole entsprechend des festgelegten Ablaufprotokolls charakterisiert. Für die Bestimmung der intra- und inter-individuellen Reproduzierbarkeit der Ergebnisse finden am ersten Tag eine Wiederholung der Untersuchung nach drei Stunden und eine weitere an einem zweiten Messtag statt.

Um die Eignung der physikalischen Eigenschaften der endogen generierten Aerosole als Biomarker zu untersuchen, werden die für die Patienten mit COPD erzielten Ergebnisse in Abhängigkeit geeigneter biologisch-medizinischer Parameter, insbesondere der Lungenfunktionsparameter, systematisch in Abhängigkeit des Schweregrads der Erkrankung ausgewertet und mit den Resultaten für die gesunden Personen verglichen. Als biologisch-medizinischer Parameter wird jede Größe herangezogen, die mit einfachen Mitteln bestimmbar ist, wie Werte aus der Spirometrie oder das Alter der Person. Um Aussagen über das Potential der Exhalatanalyse für die Früherkennung zu gewinnen, erfolgt die Untersuchung auch für ein Kollektiv gesunder Raucher (normale Lungenfunktion, keine Lungenerkrankungen in der Vergangenheit).

In einer weiteren Studie wird für 10 Probanden mit leichtem intermittierendem Asthma, die eine normale Lungenfunktion aufweisen, das exhalierete Aerosol entsprechend dem festgelegten Ablaufprotokoll für die Bestimmung des Einflusses der Atemtiefe vor und

nach einer pharmakologisch induzierten Obstruktion der zentralen Atemwege charakterisiert. Die am gleichen Probanden in kurzer zeitlicher Folge durchgeführten Untersuchungen verringern einerseits den üblicherweise großen Einfluss der biologischen Variabilitäten auf die Messergebnisse und ermöglichen andererseits auch Aussagen über die Eignung exhalierter Aerosole als Biomarker für die individuelle Verlaufskontrolle von Lungenerkrankungen.

Für die gezielte Untersuchung des Einflusses der rheologischen Eigenschaften des Lungenflüssigkeitsfilms auf die Aerosolbildung in der Lunge werden in einer weiteren Studie bei den 16 gesunden Probanden die Atemmanöver vor sowie nach der Inhalation von einer physiologischen Kochsalzlösung (1.5 ml einer 0.9 Ma-%-igen Lösung) durchgeführt. Es wird postuliert, dass insbesondere die Veränderung der Oberflächenspannung, d.h. der Oberflächenaktivität, zu einer Änderung der Anzahl und des Größenspektrums der endogen generierten Aerosole führt.

Für alle Untersuchungen wird das Atemzugvolumen über einen weiten Bereich von etwa 15 – 70 % der individuellen Vitalkapazität variiert, wobei die Probanden bei jedem einzelnen Atemmuster jeweils über mehrere Atemzüge mit konstantem Atemzugvolumen bei gleichmäßigen Atemflussraten von etwa 25 – 30 l/min inhalieren und exhalieren. Soweit es für die Testpersonen zumutbar ist, erfolgen für die zeitlich hoch aufgelöste Analyse des Verlaufs der Partikelkonzentration und des Größenspektrums über einen individuellen Expirationsvorgang noch eine langsame tiefe Ausatmung bei einer Flussrate von 10 l/min nach vorhergehender maximaler Exhalation und Inhalation sowie analog ein forciertes Ausatemmanöver.

5.1.3.3 Aerosolcharakterisierung unter Mikrogravitation

Da die Lungenperipherie als Hauptentstehungsort der endogen generierten Aerosole betrachtet wird, ist zu erwarten, dass die Eigenschaften der exhalierten Aerosole nicht nur durch die Tröpfchenentstehung bestimmt werden, sondern auch durch die Redeposition bereits generierter Partikel in den komplexen Lungenstrukturen.

Unter Berücksichtigung der vorliegenden niedrigen Strömungsgeschwindigkeiten und typischen Aufenthaltszeiten von mehreren Sekunden in den terminalen Atemwegstrukturen bei gleichzeitig sehr geringen Dimensionen von 300 – 500 µm ist davon auszugehen, dass die Abscheidung supermikroner Partikel bereits hier durch Sedimentation erfolgt, so dass potentielle Redepositionseffekte durch Trägheitsimpaktion bei den hohen Strömungsgeschwindigkeiten in den oberen Atemwegen nicht relevant sind. Diffusive Abscheidungsprozesse sind nur für Partikel < 0.1 µm von Bedeutung, so dass im Erdschwerefeld für das bei exhalierten Aerosolen relevante Größenspektrum die Sedimentation der dominierende Mechanismus der Redeposition ist. Ist dieser Effekt nicht vorhanden, reduziert sich somit die Redepositionsrate auf ein Minimum und die physikalische Charakterisierung der Eigenschaften exhalierter Aerosole erlaubt direkte Rückschlüsse auf die Anzahl und Größenverteilung unmittelbar am Entstehungsort in der tiefen Lunge. Es ist daher nahe liegend, entsprechende Messungen unter Mikrogravitationsbedingungen durchzuführen.

Entsprechende Untersuchungen zur Deposition inhalierter Testpartikel zeigen, dass unter Mikrogravitation die in der Lunge abgeschiedene Fraktion im Größenbereich zwischen

0.5 und 3 μm konstant bei geringen Werten zwischen 10 und 15 % liegt und vor allem unabhängig von der Partikelgröße ist (Darquenne et al., 1997).

In einer weiteren Studie werden daher die exhalieren Partikel für 9 gesunde Nichtraucher (27 – 58 Jahre, normale Lungenfunktion, keine Lungenerkrankung in der Vergangenheit) unter variablen Gravitationsstärken, realisiert in Parabelflügen, charakterisiert. Die Messung der Partikelkonzentration erfolgt über den atemwasserdampfbasierten Kondensationskernzähler und für die Bestimmung der Tröpfchengröße kommt überwiegend das LASAIR II-110 zu Einsatz. Für genauere Aussagen hinsichtlich der Größenverteilung im super-mikronen Bereich werden für drei Probanden zusätzlich Untersuchungen mit dem LASAIR 550 durchgeführt, welches über eine deutlich bessere Aufteilung der Größenklassen in diesem Regime verfügt, jedoch bei einer geringeren zeitlichen Auflösung (6s – Intervall).

Für die Messung der Eigenschaften der ausgeatmeten Aerosole liegt der Fokus analog den Untersuchungen unter terrestrischen Bedingungen auf dem Einfluss der Atemtiefe, so dass entsprechend des ermittelten Ablaufprotokolls eine Variation des Atemzugvolumens zwischen 15 – 60 % der Vitalkapazität bei konstanten Atemflussraten von 30 l/min erfolgt. Die Zeitskalen von jeweils 20 Sekunden bei den Phasen mit Mikro- und Hypergravitation bzw. von 70 Sekunden bei normaler Erdbeschleunigung während der horizontalen Flugphasen zwischen den einzelnen Parabeln reichen aus, um jeweils mehrere Atemzüge zu analysieren. Für jeden Probanden werden daher während der unterschiedlichen Gravitationsstärken die identischen Manöver durchgeführt. Dies reduziert einerseits die meist großen Schwankungen biologischer Kenngrößen und ermöglicht andererseits den direkten Vergleich, insbesondere der unter 1 g- und 0 g-Bedingungen ermittelten Messwerte. Für die Bestimmung der Reproduzierbarkeit werden für zwei Probanden die Messungen bei einer zweiten Kampagne nach 6 Monaten wiederholt.

5.1.4 Ergebnisse

5.1.4.1 Variation der atemphysiologischen Parameter

Die Grundlage für die physikalische Charakterisierung der Eigenschaften der Aerosole im Exhalat und insbesondere ihrer Abhängigkeit vom Atemmuster bildet die zeitlich hoch aufgelöste, simultane Erfassung der Messgrößen.

Die Ergebnisse für die gleichzeitige Messung der Konzentration der exhalieren Partikel und der zugehörigen Volumenströme sind in der Abbildung 5.8 beispielhaft für einen gesunden Probanden für zwei verschiedene Atemmuster dargestellt. Die obere Kurve zeigt den zeitlichen Verlauf der Atemflussrate des Probanden, wobei positive (negative) Werte die Inhalation (Exhalation) repräsentieren. Die untere Kurve zeigt den zugehörigen Wert für die Partikelkonzentration in der Ausatemluft. Für die zeitliche Synchronisation der beiden Messgrößen ist hier die Verzögerungszeit von 3 s bereits berücksichtigt.

Um die Erfassungscharakteristik des neu entwickelten atemwasserdampfbasierten Kondensationskernzählers für die Messung exhalierter Aerosole zu bestimmen, wird der Anzahlstrom parallel zu dem kommerziell erhältlichen Partikelzähler TSI 3760 mit bekannter partikelgrößenabhängiger Zähleffizienz mit dem neuen Gerät ermittelt (Abb. 5.8). Für einen Volumenstrom bis 1 l/min werden die aus der Lunge emittierten Tröpfchen vollständig detektiert (Zähleffizienzen gegenüber TSI-Gerät von 95 - 100 %).

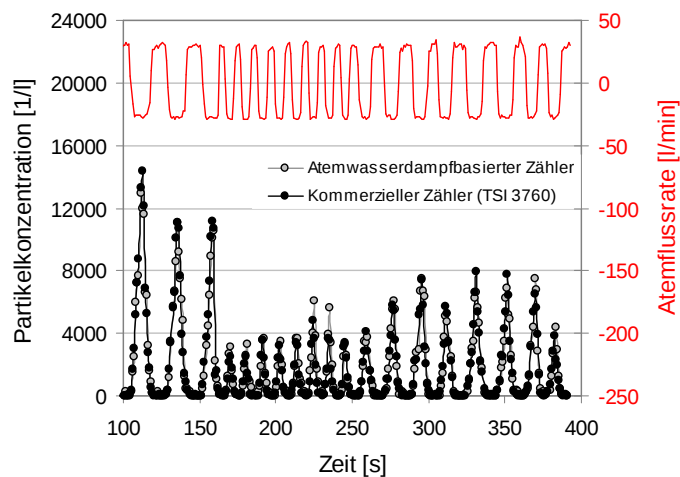


Abbildung 5.8: Atemflussrate (obere Kurve) und zugehörige Partikelkonzentration (untere Kurve) für einen gesunden Probanden über mehrere vollständige Atemzüge für drei unterschiedliche Atemmuster (Variation des Atemzugvolumens).

Die hohe zeitliche Auflösung der Messwerterfassung (1s-Intervall) ermöglicht die Analyse individueller Atemzüge und somit die Bestimmung der emittierten Partikelanzahl für jeden einzelnen Atemzug. Darüber hinaus sind auch Aussagen zum zeitlichen Verlauf der Partikeleigenschaften innerhalb des einzelnen Atemzugs möglich. So ist beispielsweise in der Abbildung 5.8 ein Anstieg der Partikelkonzentration über den Exhalationsvorgang mit einem Maximum kurz vor Ende der Ausatmung erkennbar.

Basierend auf der atemzug aufgelösten Analyse der Messergebnisse werden relevante Einflussgrößen auf den emittierten Aerosolstrom für den gesunden Menschen bestimmt. Für die schrittweise Einatmung bis hin zur maximalen Inspirationstiefe aus der Ruheatmung heraus, d.h. ausgehend von der Funktionellen Residualkapazität *FRC*, ergibt sich ein Anstieg des exhalierten Partikelanzahlstroms mit zunehmender Atemtiefe. Wird im Vorfeld jeweils eine maximale Ausatmung bis zum Residualvolumen *RV* durchgeführt, so sind gegenüber dem ersten Atemmuster allgemein deutlich höhere Partikelkonzentrationen bei dem folgenden Exhalationsvorgang zu beobachten.

Somit stellt das endexpiratorische Niveau des vorhergehenden Exhalationsvorgangs neben dem Atemzugvolumen die zweite entscheidende Einflussgröße für den exhalierten Partikelstrom dar. Dieses Ergebnis stützt die Hypothese, dass für die systematische Untersuchung der Variation der verschiedenen atemphysiologischen Parameter eine gleichförmige Atmung mit konstantem Atemzugvolumen über mehrere aufeinanderfolgende Atemzüge essentiell ist, um die Anzahl der Einflussgrößen zu minimieren.

Abbildung 5.9 zeigt beispielhaft für eine 24-jährige gesunde Probandin die Ergebnisse für die systematische Charakterisierung der Aerosolkonzentration in Abhängigkeit vom Atemzugvolumen, der Inspirations- und Expirationsgeschwindigkeit und der Atemlage.

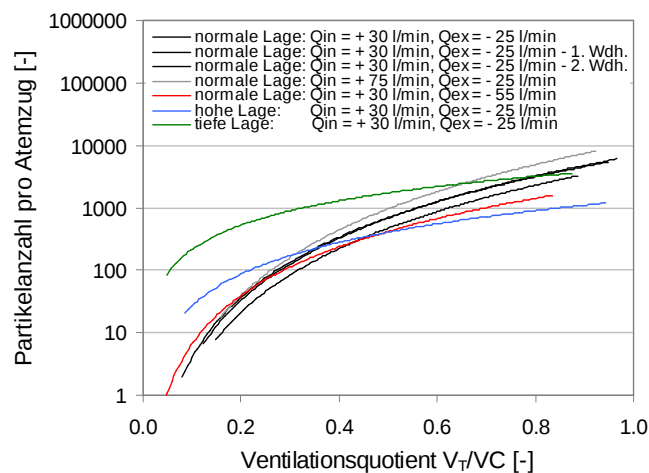


Abbildung 5.9: Partikelanzahl pro Atemzug als Funktion des Ventilationsquotienten V_T/VC in Abhängigkeit der endexpiratorischen bzw. der endinspiratorischen Atemlage: normale endexpiratorische Atemlage entsprechend FRC, tiefe endexpiratorische Atemlage entsprechend RV und hohe endinspiratorische Atemlage entsprechend TLC.

Für die Normierung der Ergebnisse von Probanden mit unterschiedlicher Lungenkapazität wird die pro Atemzug exhalierete Partikelanzahl als Funktion des sog. Ventilationsquotienten, definiert als Verhältnis des Atemzugvolumens zur Vitalkapazität V_T/VC , dargestellt. Die Auswahl der Vitalkapazität für die Beschreibung des individuellen Lungenlungenvolumens wurde in erster Linie aus praktischen Überlegungen getroffen: dieser Parameter ist im Gegensatz zu anderen Lungenfunktionskenngrößen mittels Spirometrie einfach bestimmbar, so dass eine spätere klinische Routineanwendung einer partikelbasierten Diagnostik gut realisierbar wäre. Atemzugvolumina unterhalb von 0.5 l bleiben unberücksichtigt, da hier die Dauer des Exhalationsvorgangs gegenüber den Ansprechzeiten der Messgeräte zu gering ist.

Als wichtigste Einflussgröße auf den exhalierten Partikelanzahlstrom stellt sich das Atemzugvolumen, d.h. die Atemtiefe heraus. Bei der Atmung mit moderaten, physiologischen Atemflussraten von 25 – 30 l/min ergibt sich bei einer Erhöhung des Ventilationsquotienten von 20 auf 80 % im Mittel für alle Testpersonen ein Anstieg der pro Atemzug emittierten Partikelanzahl um etwa zwei Größenordnungen.

Die Variation der Inspirations- und Expirationsgeschwindigkeit hat, im Vergleich zur Atemtiefe, einen geringen Einfluss auf den exhalierten Partikelstrom: die Zunahme der Expirationsgeschwindigkeit im Bereich zwischen 10 – 50 l/min führt im Mittel zu einem leichten Anstieg der Tröpfchenanzahl um einen Faktor von 2-3 für die untersuchten gesunden Probanden. Wird die Inspirationsgeschwindigkeit um einen Faktor von 5 variiert (20 – 100 l/min), zeigt sich nur eine geringfügige, nicht signifikante Zunahme der Anzahlemission.

Eine stärkere und nicht mehr zu vernachlässigende Einflussgröße stellt die Atemlage dar. Für die schrittweise Erhöhung des Atemzugvolumens aus der maximalen endexpiratorischen Atemlage (Residualkapazität) heraus zeigt sich für niedrige Ventilationsverhältnisse eine Zunahme der Partikelanzahl pro Atemzug um einen Faktor von etwa 5, während sich das Emissionsniveau für hohe Werte von V_T/VC wieder den Werten bei der Atmung mit normaler, physiologischer Atemlage annähert. Erfolgen diese Atemmanöver aus der maximalen endinspiratorischen Atemlage (Totale Lungenkapazität)

heraus, ist ein gegenläufiger Trend mit verringerten Partikelanzahlen bei hoher Ventilation zu beobachten.

Für die Untersuchungen bei der Atmung gegen einen positiven expiratorischen Druck (mittels eines PEEP-Ventils im Exhalationszweig) zeigt sich im Bereich von 1 – 20 cmH₂O keine Veränderung des Emissionsniveaus. Erst die Realisierung eines permanenten positiven Atemwegsdruckes (mittels PEEP-Ventil im Exhalations- und Inhalationszweig) führt zu einer signifikanten Reduktion des exhalierten Aerosolanzahlstroms, beispielsweise auf etwa ein Drittel für eine 26-jährige untersuchte Testperson.

Die intra-individuelle Reproduzierbarkeit des Partikelemissionsmusters ist sowohl innerhalb eines Messtages als auch an verschiedenen Messtagen sehr hoch, jedoch variiert das Niveau der Anzahlemission inter-individuell innerhalb des Kollektivs der gesunden Probanden um mehr als 2 Größenordnungen.

In der Abbildung 5.10 ist die über einen Atemzug zeitlich gemittelte Partikelgrößenverteilung dargestellt, wie sie in der Pilotstudie typischerweise für alle Testpersonen bei Normalatmung mit dem optischem Partikelgrößenspektrometer Lasair II 110 bestimmt wurde. Die Partikelgröße liegt überwiegend im submikronen Bereich mit einem Anzahlmedianwert für den Durchmesser von 0.3 μm und erweist sich als nahezu unabhängig von der Variation atem- und lungenphysiologischer Parameter. Die Kurve ist die beste Anpassung der Messergebnisse an eine logarithmische Normalverteilung. Mit zunehmendem Atemzugvolumen sowie mit abnehmender Expirationsgeschwindigkeit ist eine geringfügige Verschiebung der Partikelgrößenverteilung in Richtung kleinerer Durchmesser verbunden.

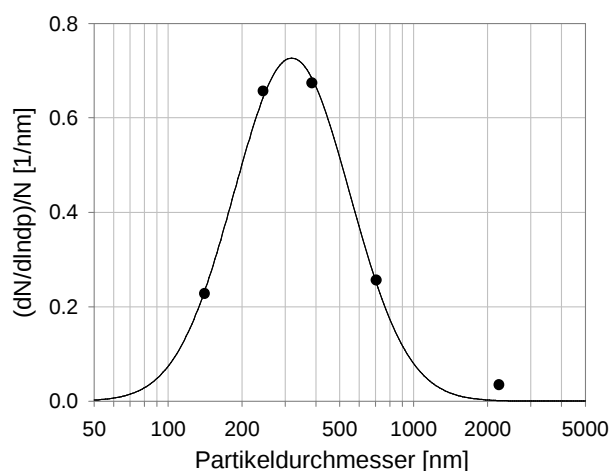


Abbildung 5.10: Über einen Atemzug zeitlich gemittelte normierte anzahlbezogene Partikelgrößenverteilung für einen gesunden Nichtraucher bei normaler Ruheatmung.

Zusätzlich zu der atemzuggemittelten Auswertung wird für eine weitergehende Untersuchung des Tröpfchengrößenspektrums auch eine zeitlich hoch aufgelöste Analyse der Partikelgrößenverteilung innerhalb des individuellen Ausatemvorgangs vorgenommen. Die folgende Abbildung 5.11 zeigt exemplarisch für einen gesunden Probanden die normierte Tröpfchengrößenverteilung zu verschiedenen Zeitpunkten während einer langsamen Exhalation (Atemflussrate 10 l/min) bei hohem Atemzugvolumen. Es ist eine deutliche Verschiebung des Anzahlmedianwertes hin zu kleineren Durchmessern von etwa 0.5 μm zu Beginn auf 0.25 μm am Ende der Ausatmung zu beobachten.

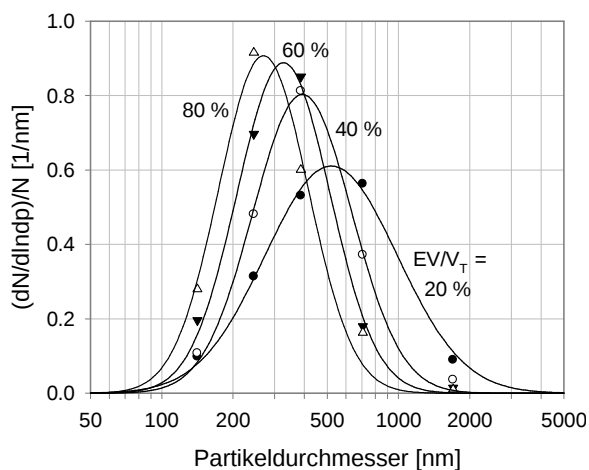


Abbildung 5.11: Zeitlich aufgelöster Verlauf der normierten anzahlbezogenen Größenverteilung der exhaliierten Partikel über einen individuellen Ausatemvorgang bei einem hohen Atemzugvolumen für eine exhalierte Volumenfraktion $EV/V_T = 0.2, 0.4, 0.6$ und 0.8 .

Das Atemzugvolumen, d.h. die Atemtiefe, ist wichtigste atemphysiologische Einflussgröße auf den exhaliierten Partikelanzahlstrom für den gesunden Menschen. Die Untersuchungen zeigen eine sehr hohe Reproduzierbarkeit des individuellen Partikelemissionsmusters für den einzelnen Probanden, während inter-individuell erhebliche Unterschiede im Niveau der Anzahlemission im Bereich von zwei Größenordnungen innerhalb des Kollektivs der gesunden Probanden zu beobachten sind. Die über einen Atemzug zeitlich gemittelte anzahlbezogene Größenverteilung liegt überwiegend im submikronen Bereich (Anzahlmedian $0.3 \mu\text{m}$) und ist nahezu unabhängig sowohl von der Testperson als auch von atem- und lungenphysiologischen Kenngrößen. Im Gegensatz dazu zeigt sich für die zeitlich hoch aufgelöste Analyse des Tröpfchengrößenspektrums während eines individuellen Exhalationsvorgangs bei einem hohen Atemzugvolumen eine Abnahme der Partikelgröße mit zunehmender Ausatemdauer.

5.1.4.2 Aerosolcharakterisierung bei gesunden und lungenkranken Probanden

Basierend auf dem aus der Parameterstudie entwickelten Anlaufprotokoll werden für gesunde Personen und Patienten mit obstruktiver Atemwegserkrankung (allergisches Asthma, COPD) die exhaliierten Aerosole systematisch charakterisiert.

Der Fokus der Studie liegt auf der Untersuchung des Einflusses der Atemtiefe auf die Aerosolemission sowie der zeitlich hoch aufgelösten Analyse des Verlaufs der Partikelkonzentration und des Größenspektrums innerhalb des individuellen Expirationsvorgangs bei einem hohen Atemzugvolumen und der Reproduzierbarkeit dieser Messergebnisse.

Die Untersuchung der Anzahlemission zeigt, dass für alle Personen in den verschiedenen untersuchten Kollektiven (gesunde Nichtraucher, gesunde Raucher, COPD-Patienten und Asthmatiker) die Anzahl der pro Atemzug emittierten Partikel N_p mit zunehmendem Ventilationsquotienten deutlich ansteigt. Dieser Zusammenhang ist in der Abbildung 5.12 beispielhaft für einen gesunden Nichtraucher, einen gesunden Raucher und einen Patienten mit schwerer COPD (Stadium III) jeweils für alle drei durchgeführten

Messungen dargestellt. Es ist erkennbar, dass mit der Erhöhung des Atemzugvolumens vom geringsten Wert bei der Ruheatmung ($V_T/VC = 15\%$) auf den größten Wert die Partikelanzahl pro Atemzug um etwa zwei Größenordnungen ansteigt.

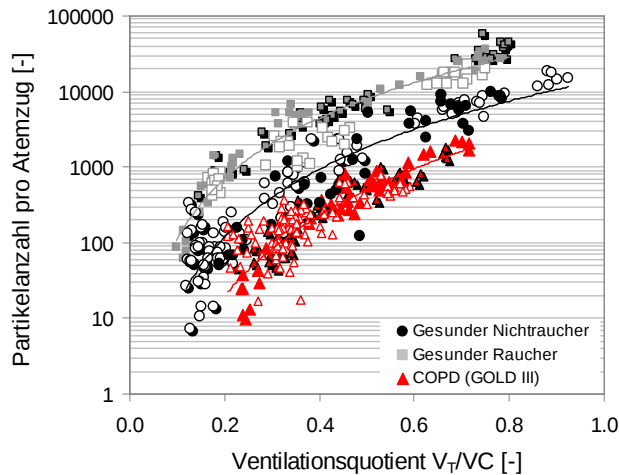


Abbildung 5.12: Partikelanzahl pro Atemzug als Funktion des Ventilationsquotienten für einen gesunden Nichtraucher, einen gesunden Raucher und einen COPD-Patienten. Die unterschiedlichen Schattierungen innerhalb der Kurven repräsentieren die Messergebnisse aus drei Messungen und dienen der Veranschaulichung der Reproduzierbarkeit.

Für die Bestimmung der individuellen Partikelemissionsfunktion werden jeweils alle innerhalb des vorliegenden Atemmusters gleichförmig, d.h. mit konstanten respirationsphysiologischen Parametern, ausgeführten Atemzüge herangezogen, so dass sich die Anzahl der analysierten Atemzüge zwischen den Testpersonen unterscheidet.

Wie anhand der Abbildung 5.12 zu erkennen ist, ist das individuelle Partikelemissionsmuster für alle untersuchten Probanden sowohl innerhalb eines Messtages als auch an verschiedenen Messtagen sehr gut reproduzierbar. So ergibt sich bei Betrachtung aller Studienteilnehmer für einen Ventilationsquotienten von 60 % (normale Ruheatmung) ein durchschnittlicher Wert von 29 % für den intra-individuellen Variationskoeffizienten.

Die Abhängigkeit der pro Atemzug emittierten Partikelanzahl N_p vom Ventilationsquotienten V_T/VC ist für jeden Probanden individuell sehr gut über eine Potenzfunktion beschreibbar:

$$N_p = A \left(\frac{V_T}{VC} \right)^b. \quad (5.8)$$

Für die weitere Analyse der Anzahlemission wird eine Emissionskennzahl eingeführt, die als diejenige Partikelanzahl pro Atemzug definiert ist, bei der der Wert des Ventilationsquotienten einen festen, vorgegebenen Wert, z.B. 0.6, annimmt (Abb. 5.13). Neben dem arithmetischen Mittelwert der Emissionskennzahl aus den drei Messungen ist hier für die gesunden Raucher und Nichtraucher, sowie für die COPD-Patienten und Asthmatiker auch der individuell zugehörige Durchschnittswert des Exponenten der Potenzfunktion b in Abhängigkeit des Grades der Atemwegsobstruktion FEV_1/FVC dargestellt.

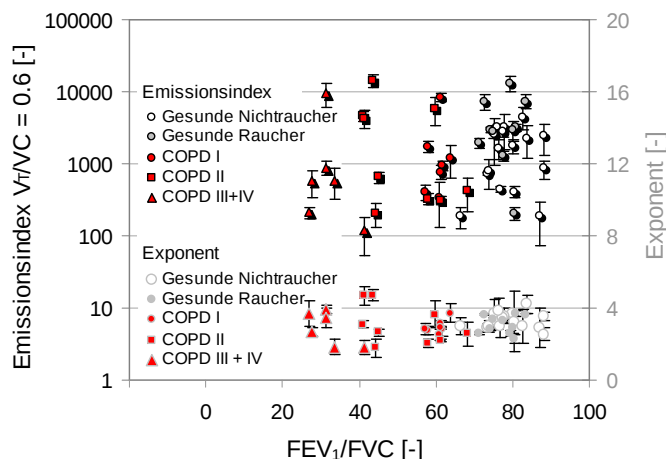


Abbildung 5.13: Partikelanzahl pro Atemzug bei einem Ventilationsquotienten $V_T/V_C = 0.6$ und zugehöriger Wert des Exponenten der individuellen potenziellen Partikelanzahlfunktion in Abhängigkeit des Grades der Atemwegsobstruktion FEV_1/FVC für alle untersuchten Versuchspersonen (Gesunde Nichtraucher, gesunde Raucher und COPD-Patienten).

Es stellt sich heraus, dass die exhalierete Partikelanzahl inter-individuell in erheblichem Maße um etwa 2 Größenordnungen variiert, wobei für das Emissionsniveau keine Abhängigkeit vom Gesundheitszustand der Lunge oder gruppenspezifische Unterschiede zu beobachten sind. Der Exponent der Potenzfunktion erweist sich als leicht abhängig vom Probandenkollektiv: für gesunde Nichtraucher ergibt sich durchschnittlich ein Wert von 3.3, für COPD-Patienten von 3.0 und für Asthmatiker von 2.55. Inter-individuell treten jedoch sowohl innerhalb der einzelnen Gruppen als auch für alle betrachteten Versuchspersonen nur geringe Schwankungen auf mit Werten zwischen 1.19 – 5.53 (Variationskoeffizient = 21 %), wobei die überwiegende Mehrheit der Probanden im Bereich zwischen 2.5 und 3.8 liegt. Auch weitere umfangreiche Korrelationsanalysen zeigen keine eindeutigen Zusammenhänge zwischen dem Anzahlemissionsniveau bzw. dem Exponenten mit bodyplethysmographisch ermittelten Lungenfunktionsparametern, wie der TLC , FRC , RV , oder anderen einfach bestimmbar biomedizinischen Kenngrößen, wie dem Alter der Person.

Werden jedoch die Gruppen der gesunden Personen und Probanden mit Atemwegserkrankungen separat betrachtet, so ist innerhalb des Kollektivs der gesunden Nichtraucher eine Abnahme der pro Atemzug emittierten Partikelanzahl mit dem Quotienten der funktionellen Residualkapazität FRC zur totalen Lungenkapazität TLC zu beobachten ($r = -0.52$, $p = 0.04$) (Abb. 5.14). Diese Abhängigkeit beschränkt sich aber auf Verhältnisse FRC/TLC oberhalb 0.45 und ist für Raucher und Patienten mit obstruktiven Atemwegserkrankungen nicht vorhanden. Die zu den jeweiligen Datenpunkten aufgetragenen vertikalen Fehlerbalken veranschaulichen die Standardabweichung aus den Ergebnissen der drei Messungen. Diese Darstellung verdeutlicht, dass die intra-individuelle Varianz wesentlich geringer als die Variabilität zwischen den Probanden ist. Daneben gibt es jedoch innerhalb der einzelnen Kollektive keine weiteren signifikanten Zusammenhänge zwischen den Kennwerten der individuellen Partikelemissionsfunktion und den zugehörigen physiologischen Parametern. Bei einem Ventilationsquotienten von 0.2, der der normalen Ruheatmung entspricht, ist jedoch mit zunehmendem Alter ein Trend (nicht signifikant) zu höheren Anzahlemissionen erkennbar ($r = 0.46$, $p = 0.076$).

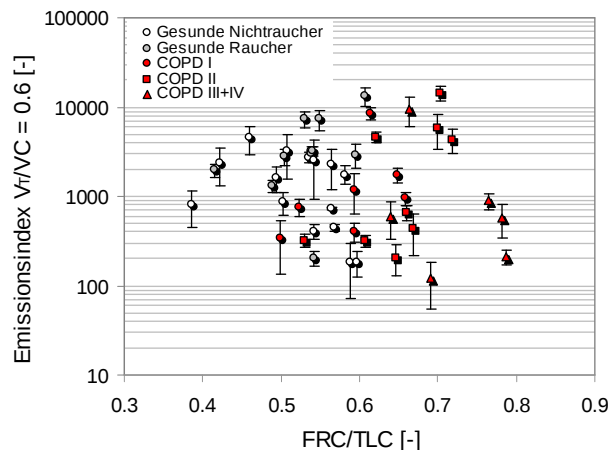


Abbildung 5.14: Partikelanzahl pro Atemzug bei einem Ventilationsquotienten $V_T/VC = 0.6$ in Abhängigkeit der individuellen normierten Atemlage FRC/TLC für alle untersuchten Versuchspersonen (Gesunde Nichtraucher/Raucher und COPD-Patienten).

In der Abbildung 5.15 ist beispielhaft für einen Probanden mit leichtem intermittierendem Asthma die exhalierete Partikelanzahl vor und nach der pharmakologisch induzierten Verengung der zentralen Atemwege zu unterschiedlichen Zeitpunkten bis zur spontanen Erholung dargestellt. Die Abnahme des Grades der Atemwegsobstruktion, dargestellt über die forcierte Einsekundenkapazität FEV_1 , führt zu keinerlei Veränderung der individuellen Partikelemissionsfunktion.

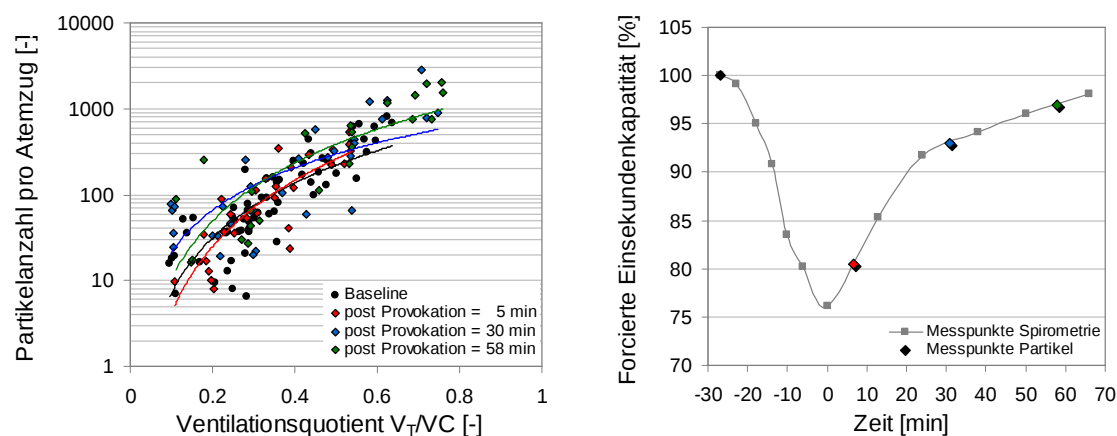


Abbildung 5.15: Rechts: Veränderung von FEV_1 während der Methacholinprovokation und der spontanen Erholung eines Probanden mit allergischem Asthma, der Zeitpunkt 0 min entspricht dem Ende der Provokation. Links: Korrespondierende Partikelemissionsfunktion für den gleichen Probanden vor der Methacholinprovokation und zu drei unterschiedlichen Zeitpunkten nach dem Ende der Provokation.

Ebenso zeigen sich für die Charakterisierung der exhalierten Aerosole bei gesunden Personen vor und nach der inhalativen Applikation der Kochsalzlösung, sowohl hinsichtlich des Anzahlstroms als auch der Größenverteilung keine signifikanten Unterschiede.

Für die zeitlich hoch aufgelöste Analyse des Verlaufs der Tröpfchenanzahlkonzentration über einen langsamen Exhalationsvorgang sind Unterschiede zwischen gesunden Personen und COPD-Patienten erkennbar (siehe Abb. 5.16). Sowohl für die gesunden Nichtraucher als auch die Raucher steigt die Partikelemission in der Regel stetig bis auf ein Maximum bei der Hälfte des ausgeatmeten Volumens an, bevor sie zum Ende des Exhalationsprozesses wieder abfällt. Im Gegensatz dazu erreicht sie für die meisten COPD-Patienten bereits relativ kurz nach Beginn der Ausatmung ein Plateau und sinkt im weiteren Verlauf vergleichsweise nur geringfügig ab.

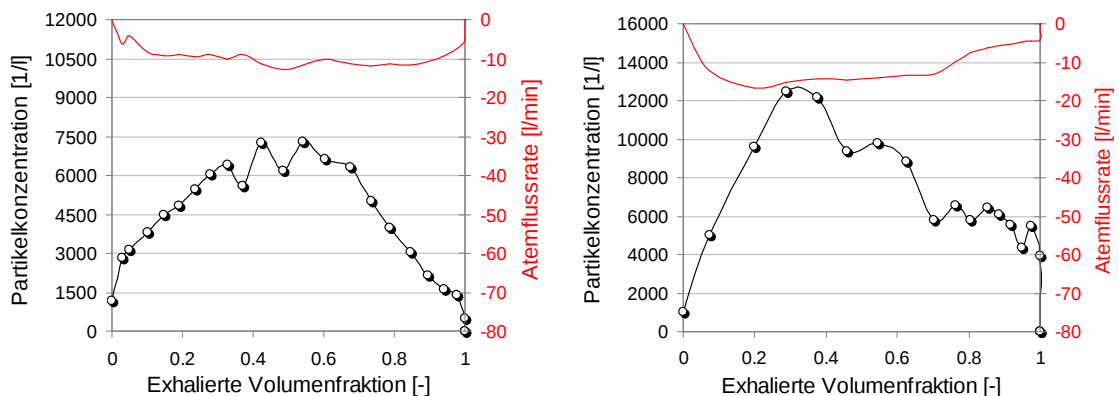


Abbildung 5.16: Zeitlich hoch aufgelöster Verlauf der Partikelkonzentration im Exhalat über einen individuellen Exhalationsvorgang bei einem hohen Atemzugvolumen von 3.5 l für einen gesunden Nichtraucher (links) und einen COPD-Patienten (Stadium III) (rechts).

Die Abbildung 5.17 zeigt die über einen Atemzug zeitlich gemittelte Partikelanzahlgrößenverteilung bei normaler Ruheatmung für die Kollektive der gesunden Nichtraucher, der gesunden Raucher, sowie der COPD-Patienten und Asthmatiker unter Tidalatmung, wobei die Kurven die beste Anpassung an eine logarithmisch normal verteilte Funktion sind. Die vertikalen Fehlerbalken stellen die Standardabweichung der Dichtewerte für die verschiedenen Partikeldurchmesser innerhalb der einzelnen Probandenkollektive dar.

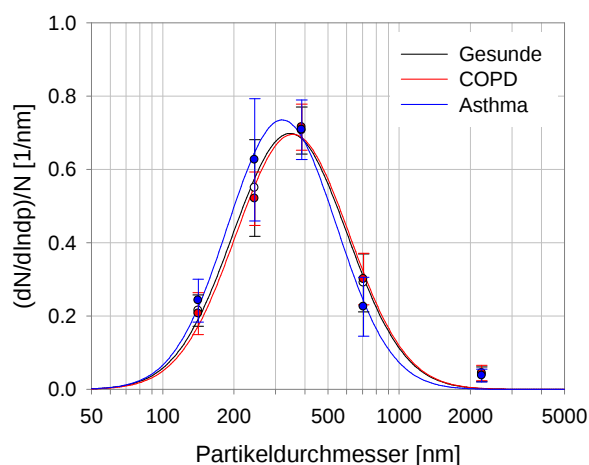


Abbildung 5.17: Normierte anzahlbezogene Partikelgrößenverteilung der exhalierten Aerosole jeweils gemittelt über alle gesunden Versuchspersonen, COPD-Patienten und Personen mit allergischem Asthma. Die zu den Messpunkten zugehörigen vertikalen Fehlerbalken veranschaulichen die Standardabweichung der Dichtewerte innerhalb der Kollektive.

Es ist erkennbar, dass die über einen Atemzug gemittelte Größenverteilung im Rahmen enger Varianzen unabhängig von der Testperson und folglich auch dem Gesundheitszustand der Lunge ist. Dementsprechend ist die inter-individuelle Varianz sehr gering mit einem Variationskoeffizienten von 9 % unter Berücksichtigung aller untersuchten Testpersonen. Die Größe der Partikel liegt, wie bereits in den Voruntersuchungen beobachtet, überwiegend im submikronen Bereich mit einem Anzahlmedianwert von $0.3\ \mu\text{m}$. Nur etwa 2 % der Tröpfchen weisen einen Durchmesser oberhalb $1\ \mu\text{m}$ auf, Partikel mit einer Größe $> 5\ \mu\text{m}$ werden nur bei sehr wenigen Probanden vereinzelt beobachtet. Entgegen den Ergebnissen der Parameterstudie bestätigt sich für die individuelle Testperson die systematische Abnahme der Partikelgröße mit zunehmendem Atemzugvolumen, d.h. zunehmender Atemtiefe, nur für die gesunden Versuchspersonen eindeutig.

Im Gegensatz zur Invarianz der atemzuggemittelten Partikelgrößenverteilung sind für die zeitlich hoch aufgelöste Analyse des Tröpfchengrößenspektrums über einen individuellen Exhalationsvorgang bei hohem Atemzugvolumen deutliche Unterschiede zwischen gesunden Nichtrauchern, gesunden Rauchern und COPD-Patienten zu beobachten, wie in Abbildung 5.18 exemplarisch für jeweils einen Probanden der verschiedenen Kollektive dargestellt.

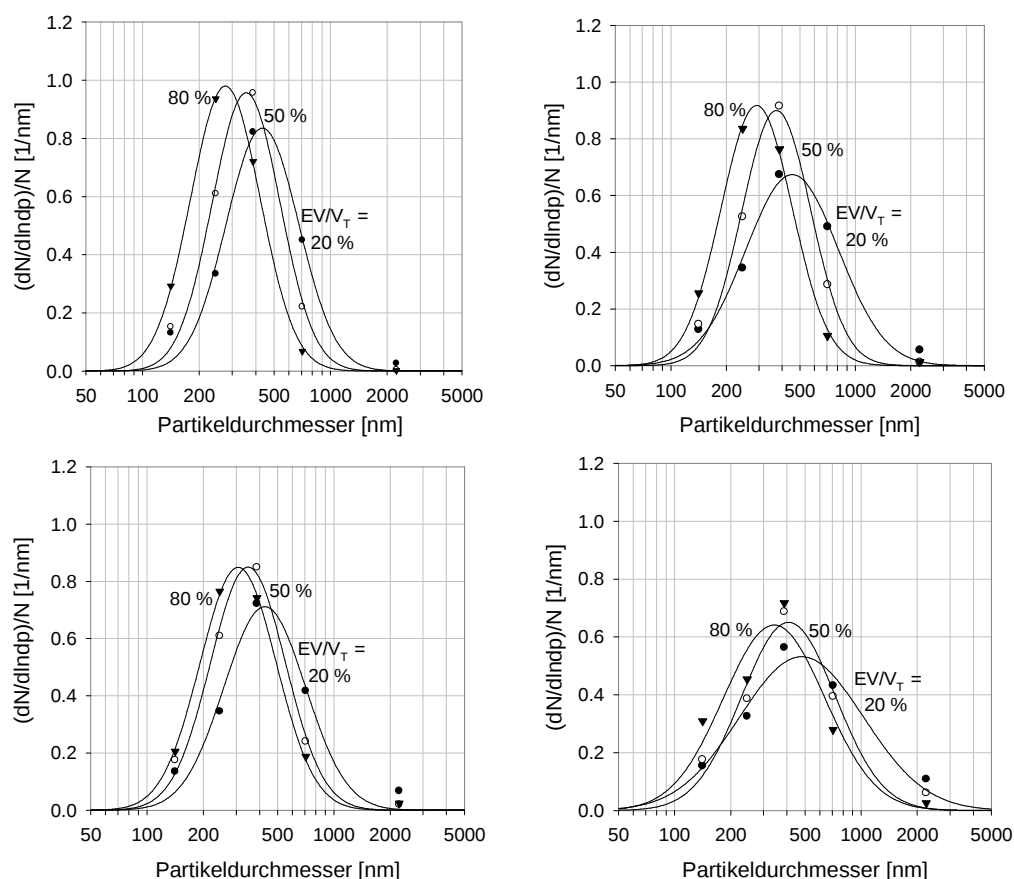


Abbildung 5.18: Zeitlich aufgelöster Verlauf der normierten anzahlbezogenen Größenverteilung der exhalierten Partikel über einen individuellen Exhalationsvorgang bei einem hohen Atemzugvolumen für eine exhalierete Volumenfraktion $EV/V_T = 0.2, 0.5$ und 0.8 für einen gesunden Nichtraucher (links oben), einen gesunden Raucher (rechts oben), einen Patienten mit milder COPD (links unten) und einen Patienten mit schwerer COPD (rechts unten).

Hier zeigt sich insbesondere auch für einen Teil der gesunden Raucher und alle COPD-Patienten mit steigendem Schweregrad der Erkrankung eine im Vergleich zu gesunden Nichtrauchern zunehmend geringere Verschiebung der Partikelgröße in Richtung kleinerer Tröpfchen mit der Ausatemdauer. Des Weiteren ist erkennbar, dass sich für die Lungenkranken und die Raucher die geometrische Standardabweichung, d.h. die Verteilungsbreite, während der Exhalation gegenüber den gesunden Nichtrauchern nur geringfügig verändert.

Die hier gefundenen Unterschiede der Tröpfchengrößenspektren zwischen den Kollektiven stehen nicht im Widerspruch zur Invarianz der über den Atemzug zeitlich gemittelten Größenverteilung, da die exhalierete Partikelanzahl am Ende der Ausatmung gegenüber der Gesamtanzahl über dem Atemzug gering ist (Abb. 5.16).

Zusammenfassend stellt sich bei der systematischen Charakterisierung der endogen generierten exhalierten Aerosole für gesunde Personen und Patienten mit obstruktiver Atemwegserkrankung heraus, dass das Partikelemissionsmuster für den einzelnen Probanden sehr gut reproduzierbar ist. Für alle Probanden steigt mit zunehmender Atemtiefe die pro Atemzug emittierte Partikelanzahl potenziell an, wobei der Wert des Exponenten zwischen den Probanden nur in geringem Umfang variiert. Im Niveau der Anzahlemission zeigen sich inter-individuell jedoch erhebliche Unterschiede, die unabhängig vom Gesundheitszustand der Lunge sind. Die atemzuggemittelte Partikelgrößenverteilung ist im Rahmen enger Varianzen unabhängig von der Testperson. Im Gegensatz dazu ergeben sich für die zeitlich hoch aufgelöste Analyse des Tröpfchengrößenspektrums während eines langsamen Exhalationsmanövers bei hohem Atemzugvolumen deutliche Unterschiede zwischen Gesunden, gesunden Rauchern und Patienten mit obstruktiver Atemwegserkrankung. Das atemzugaufgelöste Partikelkonzentrationsprofil zeigt für den überwiegenden Teil der Patienten mit Atemwegsverengung ebenfalls Veränderungen gegenüber den gesunden Versuchspersonen.

5.1.4.3 Aerosolcharakterisierung unter Mikrogravitation

Ein wichtiger Teilaspekt der Mechanismusaufklärung der endogenen Aerosolentstehung ist die Unterscheidung zwischen den Eigenschaften der generierten Aerosole unmittelbar am Entstehungsort und der partikelgrößenabhängigen Redepositionsrate in den komplexen Lungenstrukturen während des Exhalationsvorgangs. Da im relevanten Größenspektrum im Erdschwerefeld die Sedimentation der zu erwartende dominierende Mechanismus der Redeposition ist, werden die Eigenschaften der exhalierten Aerosole für gesunde Raucher und Nichtraucher unter variablen Gravitationsbedingungen im Rahmen von Parabelflügen charakterisiert.

Die typischen Messergebnisse einer zeitgleichen Bestimmung der exhalierten Partikelkonzentration, Atemflussrate und Gravitationsstärke sind in der Abbildung 5.19 für ein vollständiges Parabelmanöver dargestellt. Die obere Kurve zeigt das Niveau der Gravitation, die zugehörige Atemflussrate und Partikelkonzentration werden in der mittleren bzw. unteren Kurve veranschaulicht.

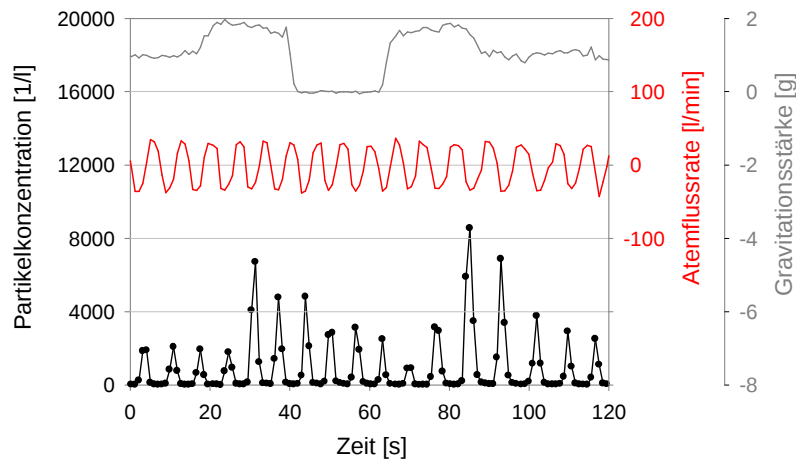


Abbildung 5.19: Simultane Aufzeichnung der Gravitationsstärke, der Atemflussraten und der exhalierten Partikelanzahlkonzentration für einen gesunden Nichtraucher während eines vollständigen Parabelmanövers.

Analog den Ergebnissen unter terrestrischen Bedingungen steigt unter Mikrogravitation die pro Atemzug emittierte Partikelanzahl für alle Probanden mit zunehmendem Ventilationsquotienten, d.h. Atemtiefe, potenziell an. Für den individuellen Probanden verändert sich diese Funktion unter Mikrogravitationsbedingungen gegenüber den Ergebnissen im Erdschwerefeld nicht signifikant. Der für alle gesunden Versuchspersonen gemittelte Wert des Exponenten der Potenzfunktion ist mit 3.0 bei 0 g etwas niedriger, verglichen mit 3.3 unter 1 g, wobei die inter-individuelle Varianz relativ gering ist. Für kleine Atemzugvolumina ist die Anzahl der exhalierten Partikel unter Schwerelosigkeit um einen Faktor von etwa 2 erhöht, während der Einfluss der Gravitation bei großen Atemzugvolumina keinen Einfluss hat (Abb. 5.20). Demzufolge zeigt sich unabhängig von der Gravitationsstärke inter-individuell eine sehr hohe Varianz für das Emissionsniveau im Bereich von etwa zwei Größenordnungen. Für die exemplarisch an zwei Probanden durchgeführte Wiederholung der Untersuchungen zeigt sich sowohl hinsichtlich der Emissionsraten der endogen generierten Partikel als auch der Tröpfchengröße eine sehr gute Reproduzierbarkeit der Messergebnisse nach 6 Monaten.

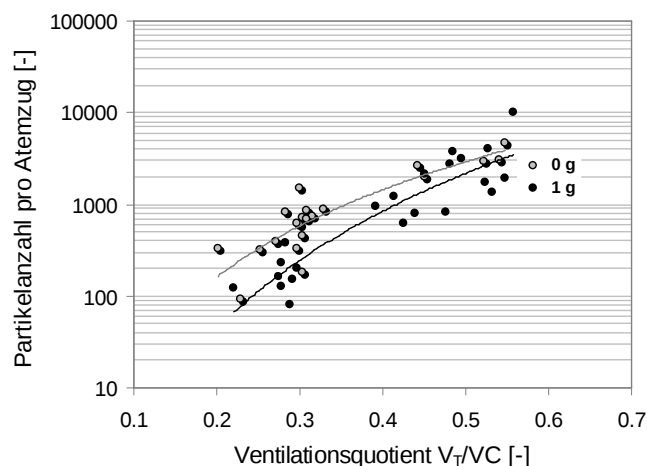


Abbildung 5.20: Partikelanzahl pro Atemzug als Funktion des Ventilationsquotienten in Abhängigkeit der Gravitationsstärke für einen gesunden Nichtraucher.

In der Abbildung 5.21 sind die zeitlich über einen Atemzug gemittelten anzahlbezogenen Größenverteilungen für das Kollektiv aller gesunden Versuchspersonen unter normaler Ruheatmung dargestellt. Die Kurven für die Dichteverteilungsfunktionen stellen jeweils die beste Anpassung der Messergebnisse an eine 3-parametrische logarithmische Normalverteilung dar. Die vertikalen Fehlerbalken veranschaulichen die innerhalb der beiden Gruppen auftretende Standardabweichung der Dichtewerte für die verschiedenen Partikeldurchmesser.

Für die anzahlbezogene Größenverteilung ist sowohl für die gesunden Nichtraucher als auch die gesunden Raucher unter Bedingungen der Schwerelosigkeit eine leichte Verschiebung des Anzahlmedianwertes der Partikelgröße von $0.29\ \mu\text{m}$ unter $1\ \text{g}$ auf $0.36\ \mu\text{m}$ unter $0\ \text{g}$ zu beobachten. In beiden Kollektiven liegt eine größere Fraktion im supermikronen Bereich vor, wobei Partikel $> 5\ \mu\text{m}$ nur sehr vereinzelt auftreten. Dementsprechend steigt der Wert der geometrischen Standardabweichung von 1.78 im Erdschwerefeld auf einen Wert von 2.30 unter Mikrogravitation an. Die detaillierte Untersuchung der supermikronen Fraktion bei gesunden Nichtrauchern mittels des LASAIR 550 zeigt, dass die Größe der exhalieren supermikronen Tröpfchen überwiegend im Bereich zwischen $1 - 3\ \mu\text{m}$ liegt, Partikel mit einem größeren Durchmesser treten nur in vergleichsweise sehr geringem Umfang auf. Die inter-individuelle Variabilität des anzahlbezogenen Medianwertes der Partikelgröße ist in der Schwerelosigkeit mit einem Variationskoeffizienten von 5 % geringfügig höher als der Wert von 3.6 % unter terrestrischen Bedingungen.

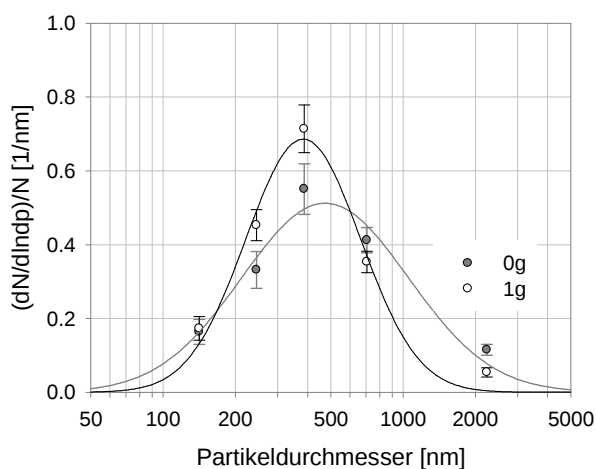


Abbildung 5.21: Normierte anzahlbezogene Partikelgrößenverteilung für das Kollektiv der gesunden Versuchspersonen bei normaler Ruheatmung unter Mikrogravitation und unter normaler Erdbeschleunigung. Die zu den Messpunkten zugehörigen vertikalen Fehlerbalken veranschaulichen die Standardabweichung der Dichtewerte für die Partikeldurchmesser.

Im Gegensatz zu den Ergebnissen unter terrestrischen Bedingungen ist unter Mikrogravitation für alle Probanden individuell eine vom Atemzugvolumen unabhängige, d.h. konstante Partikelgrößenverteilung der emittierten Tröpfchen zu beobachten.

Für die zeitlich hoch aufgelöste Analyse des Größenspektrums über den individuellen Exhalationsvorgang bei einem hohen Atemzugvolumen zeigt sich unter Bedingungen der Schwerelosigkeit für die individuelle Testperson eine gleich bleibende Größenverteilung. Somit ist das in der Lunge generierte Partikelgrößenspektrum intra-individuell

unabhängig von der Atemtiefe, d.h. dem Entstehungsort in der Lunge, während inter-individuell geringe Unterschiede in dem generierten Tröpfchendurchmesser auftreten. Im Gegensatz dazu ist unter dem Einfluss der Gravitation eine deutliche Abnahme des Durchmessers der Tröpfchengrößenverteilung für alle untersuchten Probanden zu beobachten (Abb 5.22), da der Anteil der Grobfraction oberhalb $0.5 \mu\text{m}$ über den Verlauf des Exhalationsvorgangs erheblich absinkt.

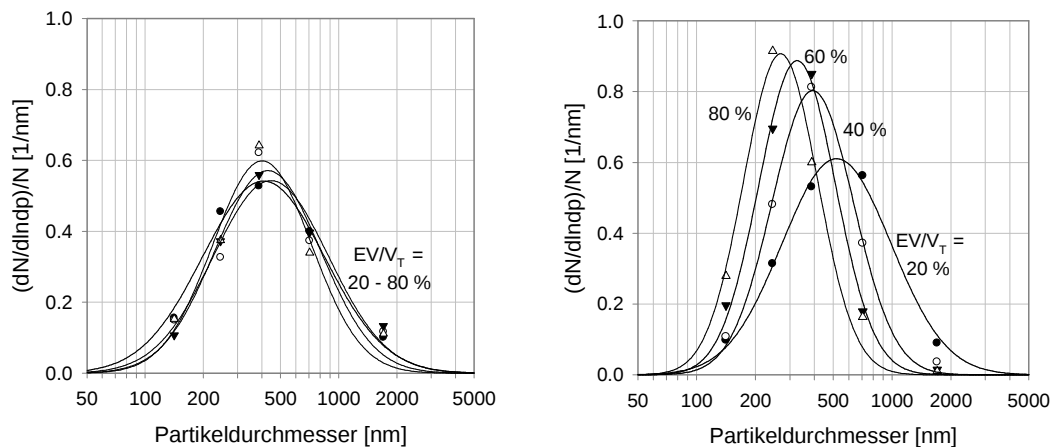


Abbildung 5.22: Zeitlich aufgelöster Verlauf der normierten anzahlbezogenen Größenverteilung über einen individuellen Exhalationsvorgang ($Q_{\text{ex}} = 25 \text{ l/min}$) bei einem hohen Atemzugvolumen für eine exhaliertere Volumenfraktion $EV/V_T = 0.2, 0.4, 0.6$ und 0.8 für einen gesunden Nichtraucher unter Mikrogravitation (links) und unter normaler Erdbeschleunigung (rechts).

Die Analyse der normierten Dichteverteilungen zu Beginn und am Ende des Exhalationsvorgangs unter den verschiedenen Gravitationsstärken zeigt, dass im Erdschwerefeld die Partikelgrößenverteilung zu Beginn der Ausatmung näherungsweise der invarianten Größenverteilung unter Mikrogravitationsbedingungen entspricht.

Die Betrachtung der zeitlich hoch aufgelösten Verläufe der auf die Gesamtanzahl normierten Partikelströme über den Exhalationsvorgang in den einzelnen Partikelgrößenklassen verdeutlicht die angesprochenen Zusammenhänge (Abb. 5.23).

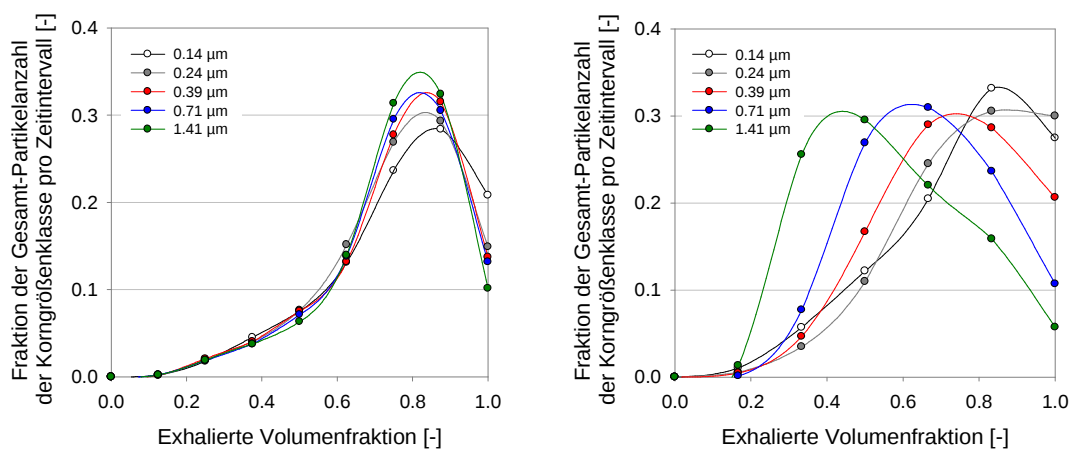


Abbildung 5.23: Zeitlicher Verlauf der auf die jeweilige Partikelgesamtanzahl normierten einzelnen Korngrößenklassenfraktionen über den Exhalationsvorgang bei einem hohen Atemzugvolumen unter Mikrogravitation (links) und normaler Erdbeschleunigung (rechts).

Für gesunde Nichtraucher, wie in dieser Abbildung exemplarisch für eine Testperson dargestellt, sinkt unter Einfluss der Gravitation die Konzentration der Teilchen im Größenbereich oberhalb $0.5\ \mu\text{m}$ bereits in einem sehr frühen Stadium während des Ausatemvorgangs deutlich ab, während für die feineren Partikel $< 0.3\ \mu\text{m}$ die Konzentration nahezu bis zum Ende der Exhalation kontinuierlich zunimmt. Unter Mikrogravitation ist im Gegensatz zu den Ergebnissen unter terrestrischen Bedingungen eine für alle Größenfraktionen nahezu gleichförmige Zunahme des Anzahlstroms über den gesamten Exhalationsvorgang zu beobachten. Lediglich in der feinsten Partikelgrößenklasse im Bereich zwischen 0.1 und $0.2\ \mu\text{m}$ ist zum Ende der Expiration ein leichter Rückgang der Partikelkonzentration gegenüber den größeren Fraktionen zu beobachten.

Der generelle Abfall der Tröpfchenanzahl in allen Größenklassen am Ende des Exhalationsvorgangs ist auf die zunehmende Vermischung des Analysenstroms mit partikelfreier Luft aufgrund der abnehmenden Atemflussraten zurückzuführen. Für die Interpretation der Ergebnisse ist zu beachten, dass die Kurvenverläufe der einzelnen Größenklassen relativ zueinander zu betrachten sind, da die individuelle Kurvenform wesentlich von der über die Ausatmung veränderlichen Gesamtkonzentration der Partikel im Exhalat abhängt.

Die Verschiebung der Partikelgrößenverteilung hin zu größeren Durchmessern unter Mikrogravitation entspricht jedoch einer für alle Testpersonen durchschnittlichen Zunahme des mittleren Partikelvolumens bzw. der mittleren Partikelmasse um einen Faktor von 9.5. Unter der zusätzlichen Berücksichtigung der für physiologische Ventilationsquotienten ($V_T/VC = \text{ca. } 15\ \%$) um einen Faktor von etwa 2 erhöhten Anzahlemissionen, ergibt sich unter Bedingungen der Schwerelosigkeit ein Anstieg des mit der Atemluft aus der Lunge emittierten endogen generierten Aerosolmassenstroms um durchschnittlich einen Faktor von 18. Hier treten jedoch sehr hohe inter-individuelle Schwankungen mit Werten in einem Bereich zwischen 3 bis hin zu 40 auf.

Der Vergleich der Eigenschaften der endogen generierten exhalierten Aerosole unter variablen Gravitationsbedingungen zeigt, dass der Einfluss der Schwerkraft auf die Anzahl und die anzahlbezogene Größenverteilung sowohl beim gesunden Raucher als auch Nichtraucher klein ist. Die Partikelanzahl ist bei physiologischer Atmung unter Schwerelosigkeit durchschnittlich um einen Faktor von 2 erhöht. Für die anzahlbezogene Größenverteilung zeigt sich gegenüber den terrestrischen Ergebnissen eine leichte Verschiebung des Medianwertes von $0.31\ \mu\text{m}$ bei $1\ \text{g}$ auf $0.37\ \mu\text{m}$ unter $0\ \text{g}$. Die inter-individuelle Variabilität der Partikelgröße ist unter Mikrogravitationsverhältnissen gegenüber den Werten unter terrestrischen Bedingungen leicht erhöht, bewegt sich aber insgesamt auf einem sehr niedrigen Niveau. Intra-individuell ist das exhalierete Größenspektrum sowohl vom Atemzugvolumen als auch dem Zeitpunkt der Exhalation, d.h. dem Entstehungsort in der Lunge, vollkommen unabhängig.

5.2 Biochemische Charakterisierung

5.2.1 Atemkondensatsammlung

Für die diagnostische Nutzung der biochemischen Eigenschaften der Partikel ist neben der Normierung der Analyseergebnisse auf den aus der Lunge emittierten endogen generierten Aerosolmassenstrom ein gut charakterisiertes und effizientes Abscheideverfahren notwendig. Das derzeit für die Sammlung der Partikel für eine nachfolgende Analyse der nicht-volatilen Moleküle eingesetzte Verfahren stellt die Atemkondensatsammlung dar, die jedoch noch nicht ausreichend validiert und standardisiert ist (Borrill et al., 2008; Hunt, 2007; Horvath et al., 2005). In diesen Systemen, die mittlerweile auch kommerziell erhältlich sind (z.B. R Tube, Respiratory Research Inc., Charlottesville, Virginia, USA; Eco Screen, Viasys, Höchberg, Deutschland), wird der gesamte Exhalatstrom über ein stark gekühltes Rohr- oder Schlauchsystem geführt, mit dem Ziel, Wasserdampf und Aerosole im Sammelrohr abzuschneiden (siehe Abb. 5.24) (Hillas et al., 2009; Mutlu et al., 2001).

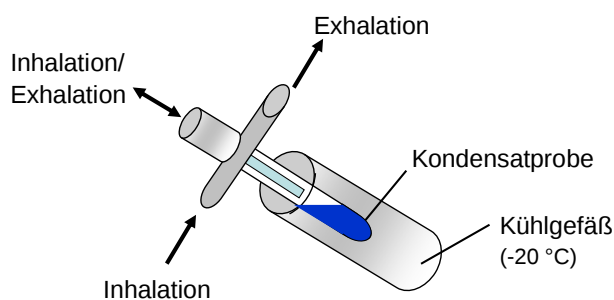


Abbildung 5.24: Aufbau einer Vorrichtung für die Sammlung von Atemkondensat (modifiziert nach Wiemer, 2002).

Typischerweise beträgt die Rohrlänge ca. 20 – 30 cm mit einem Innendurchmesser von etwa 1 cm. Somit liegt die Strömungsgeschwindigkeit des Ausatemluftstroms bei ca. 3 m/s, und die Aufenthaltsdauer in der Sammelvorrichtung bewegt sich im Bereich von lediglich etwa 0.1 s.

Bereits einfache theoretische Betrachtungen zeigen, dass infolge der großen Querschnittsdimensionen der Abscheideeinheit sowie der sehr geringen Aufenthaltsdauer für die zu erwartenden sehr feinen Tröpfchen im submikronen Bereich kein ausreichendes Kondensationswachstum infolge der Wasserdampfübersättigung realisierbar ist, so dass nicht von einer effektiven, d.h. quantitativen, sedimentativen oder impaktionsbedingten Abscheidung am Boden des Sammelrohres auszugehen ist.

Neben der fehlenden Aerosolmassenberücksichtigung und der methodisch bedingt hohen Verdünnung der zu analysierenden Substanzen durch die Auskondensation des gesamten Wasserdampfes ist das Verfahren der Atemkondensatsammlung noch mit einer Reihe weiterer Unsicherheiten behaftet: die Effizienz der Partikelabscheidung und insbesondere deren Abhängigkeit von der Partikelgröße und der Atemflussrate sind unbekannt; die Sammlung der Partikel erfolgt nicht lokalisiert, sondern zufällig an den Innenwänden des gekühlten Rohrsystems; große Partikel, die aus dem Mund- und Rachenraum stammen, und insbesondere auch Verunreinigungen von Speichel können,

wie kürzlich auch von Gaber et al. (2006) festgestellt, in die Kondensatprobe gelangen und die Messergebnisse erheblich verfälschen.

Diese theoretischen Überlegungen zeigen, dass aufgrund der verfahrenstechnischen Randbedingungen nur sehr geringe Konzentration der zu analysierenden nicht-volatilen Biomarker vorliegen können, verbunden mit einer schwierigen Nachweisbarkeit der Substanzen, sowie einer schlechten Reproduzierbarkeit der Messergebnisse (Effros, 2010; Bayley et al., 2008; Horvath et al., 2005). Außer dem Effekt der Verunreinigung der Proben mit Speichel wurden bislang in der Literatur diese Unsicherheiten weder konkretisiert noch systematisch untersucht, bzw. Verfahren vorgeschlagen oder entwickelt, um diese Schwierigkeiten zu umgehen.

Ziel der Untersuchungen ist, auf Basis der über die systematische Charakterisierung der physikalischen Eigenschaften der exhalierten Aerosole gewonnenen Erkenntnisse, die Eignung der Atemkondensatsammlung für die nachfolgende Analyse der nicht flüchtigen Marker zu klären. Hierfür sollen sowohl die zugrunde liegenden verfahrenstechnischen als auch physiologischen Randbedingungen berücksichtigt werden und Aussagen über die Eigenschaften der resultierenden Probenmatrix getroffen werden. Aufbauend auf diesen Erkenntnissen werden ein geeignetes Atemmuster festgelegt sowie ein Verfahren für die Aerosolmassenstandardisierung für nachfolgende biochemische Analysen der nicht-volatilen Komponenten etabliert.

5.2.2 Entwicklung und Einsatz eines Verfahrens zur unverdünnten Sammlung exhalierter Partikel

Ziel dieses Abschnitts ist die Beschreibung der Entwicklung und Anwendung eines gegenüber der konventionellen Atemkondensatsammlung nachweisstärkeren und besser standardisierbaren Abscheideverfahrens für die Analyse exhalierter Aerosole, basierend auf einer lokalisierten Trägheitsabscheidung.

Hierbei wird die Trägheit der Partikel genutzt, die nach der Beschleunigung über eine Sendedüse und der anschließenden plötzlichen Umlenkung des Fluids die Stromlinien verlassen und direkt auf einem für die nachfolgende Analytik geeigneten Probenträger abscheidbar sind. Somit ist eine völlig unverdünnte Sammlung der Partikel aus dem vorliegenden hohen, wasserdampfgesättigten Ausatemstrom auf vergleichsweise einfachem Wege realisierbar. Ein weiterer entscheidender Vorteil dieses Verfahrens besteht in der konstanten Beschleunigung der Partikel, d.h. der Absaugung eines gleich bleibenden Probenahmeverbundenstroms über die Sendedüse, so dass hier keine Abhängigkeiten der Abscheideeffizienzen vom Atemzugvolumen und der Atemflussrate vorliegen (solange nicht die relative Feuchtigkeit im System stark verändert wird). Hierfür ist im Gegensatz zur Kondensatsammlung der Einsatz einer Pumpe nötig, im Gegenzug wird jedoch kein technisch, zeitlich und finanziell aufwändiges Kühlverfahren für die Sammlung der nicht-volatilen Bestandteile des Exhalats benötigt.

Aufgrund der zu erwartenden sehr geringen Aerosolkonzentrationen in der Ausatemluft ist der gesamte bzw. der überwiegende Teil des Exhalatstromes für die Realisierung möglichst hoher Analysenmengen zu beproben. Unter Berücksichtigung dieser hohen Probenahmeverbundenströme von $> 10 \text{ l/min}$ und der gleichzeitig für die Abscheidung der vermutlich überwiegend submikronen Partikel notwendigen niedrigen Trennkorngrößen und somit geringen Düsenweiten, bietet sich die Verwendung einer Schlitzgeometrie an.

Eine solche konzentrierte linienförmige Abscheidung gewährleistet zudem eine gute Nachweisbarkeit des Proteins und ermöglicht eine automatische, optische Auswertung der Nachweisintensität mittels eines Kamerverfahrens.

Hier bietet sich der Einsatz einer am ITEM im Rahmen der Diplomarbeit der Autorin entwickelten und physikalisch charakterisierten Schlitzdüse an, die für die Düsenöffnung eine Länge von 20 mm und eine Weite von 120 μm aufweist (Schwarz, 2007). An dieser Stelle sei nur der Vollständigkeit der vorliegenden Arbeit halber auf die wichtigsten Zusammenhänge, die das Verhalten von Trägheitsimpaktoren bestimmen, eingegangen. Eine genaue Darstellung ist der Diplomarbeit der Autorin zu entnehmen (Schwarz, 2007). Die partikelgrößenabhängige Abscheideeffizienz hängt in erster Linie von der Stokeszahl Stk ab, die für konventionelle Impaktoren als das Verhältnis der Relaxationszeit τ für die vorliegende Partikelgröße zur halben Düsenweite $W/2$ definiert ist:

$$Stk = \frac{\tau v}{W/2} = \frac{\rho_0 d_{ap}^2 v C_c}{9\eta_f W} . \quad (5.9)$$

ρ_0 stellt die Standardpartikeldichte, d_{ap} den aerodynamischen Partikeldurchmesser, v die Strömungsgeschwindigkeit im Austrittsquerschnitt, C_c den Cunningham-Korrekturfaktor und η_f die dynamische Viskosität des Trärgases dar. Für die Vereinfachung der folgenden Berechnungen für die Auslegung des Schlitzimpaktors wird die Luft in erster Näherung als inkompressibel betrachtet.

Die Trennkorngröße $d_{ap,50}$ berechnet sich entsprechend der Gleichung 5.9 zu:

$$d_{ap,50} = \sqrt{\frac{9\eta_f W}{\rho_0 v C_c}} \sqrt{Stk_{50}} . \quad (5.10)$$

Experimentelle Untersuchungen mit diesem Schlitzimpaktor bei einem Abstand S der Schlitzdüse zur Prallplatte von $S = 5 W$ ergeben für die Abscheidung im submikronen Bereich einen Wert von 0.62 für $(Stk_{50})^{1/2}$. Für einen Volumenstrom im Bereich von 10 – 15 l/min entspricht dies einer aerodynamischen Trennkorngröße zwischen 0.19 bis 0.24 μm . Dies korreliert mit hohen Abscheidegeschwindigkeiten oberhalb von 70 m/s, so dass für die getrockneten Partikelkerne die Gefahr des Bouncing sowie des Blow-off von der Sammeloberfläche besteht. Dementsprechend sind die Randbedingungen, d.h. insbesondere die Exhalationsflussrate so zu wählen, dass die Aerosole als Tröpfchen, d.h. in einer wasserdampfgesättigten Atmosphäre, abgeschieden werden. Während der Inhalationsphase wird ein Probenahmestrom geringer relativer Feuchte durch die Abscheideeinheit prozessiert, so dass das mit den Tröpfchen durch die Impaktion sowie das an den Innenflächen des Systems diffusiv abgeschiedene Wasser von dem ungesättigten Luftstrom aufgenommen und entfernt wird. Dies verhindert eine Kondensatbildung in größerem Umfang in dem System und ermöglicht die lokalisierte Fixierung der zu analysierenden Substanzen auf der Membran.

Unter diesen Bedingungen ist davon auszugehen, dass die Abscheidung quantitativ entsprechend der theoretischen partikelgrößenabhängigen Abscheideeffizienz erfolgt und kein größeres Risiko des Abprallens oder Wegblasens von der Oberfläche besteht. Die genaue Auslegung der Abscheideeinheit erfolgt auf Basis der bei der physikalischen Charakterisierung gesunder und lungenkranker Versuchspersonen ermittelten relevanten Partikelgrößenspektren im Exhalat.

Um einen aufwändigen und häufig nicht quantitativen Transfer der nicht-volatilen Bestandteile auf eine für eine Immunodetektion geeignete Membran über ein Lösungsmittel und insbesondere die damit verbundene Verdünnung zu umgehen, erfolgt die Abscheidung der Tröpfchen unmittelbar auf der Analysenoberfläche. Die eingesetzte Nitrocellulosemembran ist jedoch sehr dünn und biegsam, so dass die Gefahr einer Ansaugung an die Düse infolge des dort vorliegenden Unterdruckes besteht, zusätzlich liegt ein hoher Aufwand für die Auswechslung des Abscheidesubstrats nach einer individuellen Messung vor. Daher wurde im Rahmen der vorliegenden Arbeit eine neue Abscheideeinrichtung entwickelt, die eine sukzessive Abscheidung von insgesamt 16 Proben hintereinander auf eine in alle Raumrichtungen mittels einer genau angepassten, dünnen Lochplatte fest fixierten Membran ermöglicht (Abb. 5.25). Für die einzelne Probe ist lediglich die Apparatur über Verschlüsse zu öffnen und die gesamte Platte mit der Abscheidemembran eine Position weiter zu bewegen.

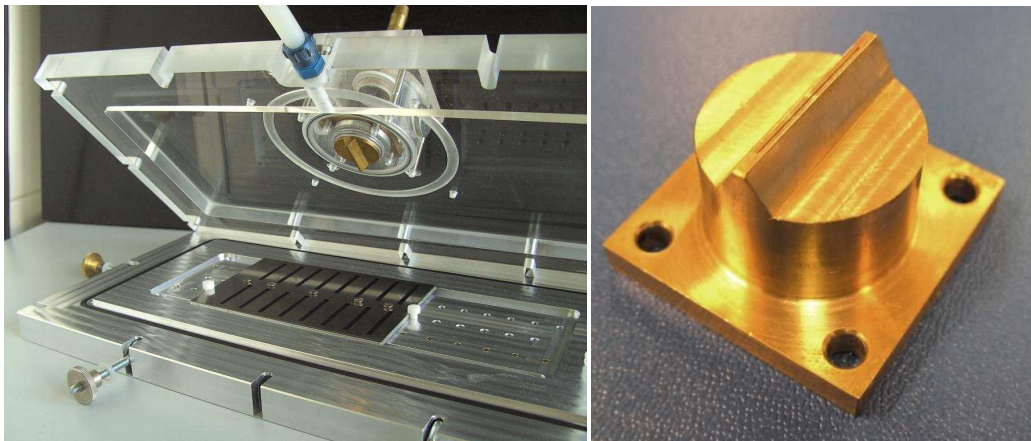


Abbildung 5.25: Links: Neu entwickelte Abscheideeinheit für die lokalisierte Trägheitsabscheidung exhalierter Aerosole. Rechts: Schlitzdüse für die linienförmige Abscheidung (aus Schwarz, 2007).

Für die Analyse der prinzipiellen Eignung dieses trägheitsbasierten Abscheideverfahrens zur nachfolgenden Analytik nicht-volatiler Verbindungen werden für 4 gesunde und 2 kranke Versuchspersonen die exhalieren Aerosole über eine unterschiedliche Sammeldauer (1 – 20 Minuten) und bei einem geeigneten noch festzulegenden Probenahmevolumenstrom unter simultaner Erfassung der physikalischen Eigenschaften abgeschieden. Zur Abschätzung der prinzipiellen Eignung der lokalisierten Trägheitsabscheidung für die nachfolgende Analytik nicht-volatiler Verbindungen werden die gewonnenen Proben beispielhaft mittels Immunodetektion auf das Protein HSA (= Humanes Serum Albumin) untersucht (Schwarz et al., 2011 A). Dieses Protein kommt gegenüber diagnostisch relevanten Entzündungsmarkern in hohem Umfang in der Lungenflüssigkeit vor und ist daher vergleichsweise gut nachweisbar, außerdem ist es relativ stabil. Die Immunodetektion stellt ein besonders empfindliches Nachweisverfahren für die Detektion von Proteinen dar (Rehm und Letzel, 2009) und ist somit für die vorliegende Aufgabe sehr gut geeignet. Um die Vergleichbarkeit der Analysenergebnisse zu gewährleisten, werden die physikalischen Eigenschaften des Aerosolstroms simultan während der Messung ermittelt. Zusätzlich werden mittels Immunodetektion zwei diagnostisch relevante Marker, Surfactant-Protein-D (SPD) und Alpha-1-Antitrypsin (α -1-AT) nachgewiesen mit dem Ziel, Aussagen über die prinzipielle Eignung der Analyse nicht-volatiler Substanzen im Exhalat für die klinische Routine zu gewinnen.

5.2.3 Ergebnisse

5.2.3.1 Optimierung und Standardisierung der Aerosolsammlung im Exhalat

Die systematische physikalische Charakterisierung der Eigenschaften der exhalierten Aerosole zeigt, dass sowohl innerhalb als auch zwischen den verschiedenen Kollektiven unabhängig vom Gesundheitszustand eine Varianz im emittierten Anzahlstrom um einen Faktor von bis zu 100 vorliegt, während das Größenspektrum im Rahmen enger Varianzen für alle untersuchten Testpersonen nahezu invariant ist.

Für die Standardisierung der Messergebnisse biochemischer Analysen der nicht-volatilen Komponenten im Exhalat ist die simultane Bestimmung der physikalischen Eigenschaften des Aerosols während der Partikelsammlung daher essentiell.

Wie den experimentellen Ergebnissen für die Partikelkonzentration in der Ausatemluft zu entnehmen ist, steigt für alle Probanden intra-individuell mit der Erhöhung des Atemzugvolumens von $V_T/VC = 0.15$, d.h. der normalen Ruheatmung, auf $V_T/VC = 0.6$ bzw. 0.7 , d.h. eine tiefe Atmung, die Konzentration um ca. einen Faktor von 20 bzw. 45 an, entsprechend einer Konzentration von 50 – 6800 pro l bzw. 100 – 25000 pro l. Aufgrund dieser insgesamt geringen Partikelemission und damit verbundenen schwierigen Nachweisbarkeit der zu analysierenden Substanzen, ist statt der derzeit etablierten Anwendung der Ruheatmung während der Sammlung (Hunt, 2007; Horvath et al., 2005), die Anwendung eines Atemmusters mit tiefer Atmung zur Erhöhung des Aerosolmassenausstoßes, z.B. auf $V_T/VC = 0.6$, von größter Bedeutung für eine nachfolgende erfolgreiche Durchführung biochemischer Analysen der Probenmatrix.

Bei diesem für die Optimierung der endogenen Aerosolgenerierung geeigneten Atemmuster werden für eine Sammeldauer von 10 Minuten bei einem durchschnittlichen Atemminutenvolumen von 10 l/min in Abhängigkeit des individuellen Emissionsniveaus zwischen 10.000 – 400.000 Partikel ausgeatmet.

An dieser Stelle stellt sich die Frage, inwieweit aufgrund des nahezu unveränderlichen Partikelgrößenspektrums in erster Näherung die Standardisierung auf den Anzahlstrom für hinreichend genaue Ergebnisse bezüglich der emittierten Massenströme ausreichend ist. Alternativ ist anstatt der simultanen Aufzeichnung des gesamten Größenspektrums auch eine Aufteilung in zwei Partikelgrößenklassen denkbar: eine erste Fraktion im Größenbereich unterhalb von $0.5 \mu\text{m}$, eine zweite Fraktion oberhalb $0.5 \mu\text{m}$. In diesem Größenbereich, wie den Ergebnissen unserer experimentellen Untersuchungen eindeutig zu entnehmen ist, sind inter-individuell bzw. insbesondere zwischen gesunden Nichtrauchern und COPD-Patienten Unterschiede zu beobachten (siehe Kapitel 5.1.4.2). Wird für die maximale Partikelgröße ein Wert von $1.5 \mu\text{m}$ festgelegt, so ergibt sich für das obere Intervall ein mittlerer Durchmesser von $0.87 \mu\text{m}$, im unteren Intervall beträgt er $0.224 \mu\text{m}$. Für diese Randbedingungen ergibt sich für das Partikelgrößenverhältnis bei einem hohen Atemzugvolumen $V_T/VC = 0.7$ und einer niedrigen Exhalationsgeschwindigkeit von 10 l/min ein Wert zwischen 0.19 – 0.23 für gesunde Nichtraucher, 0.21 – 0.32 für gesunde Raucher, 0.23 – 0.34 für Patienten mit COPD I, 0.24 – 0.64 bei COPD II, 0.34 – 0.62 bei COPD III + IV und 0.25 – 0.27 für Asthmatiker. Nachdem der Anteil der Feinfraktion gegenüber dem Anteil der Grobfraktion vergleichsweise gering ist, offenbart diese detaillierte Betrachtung eine Variation der emittierten Masse insbesondere zwischen gesunden Nichtrauchern bzw. Asthmatikern gegenüber Patienten mit COPD um einen Faktor von bis zu 3.2 bei gleicher emittierter Partikelanzahl. An dieser Stelle stellt sich die Frage, inwieweit diese Aufteilung in zwei Größenfraktionen ($> 0.5 \mu\text{m}$, $< 0.5 \mu\text{m}$) eine ausreichend genaue Standardisierung der

Analysenergebnisse hinsichtlich der inter-individuellen Unterschiede des Partikelgrößenspektrums erlaubt. Um dies zu beantworten werden exemplarisch für 12 Probanden (jeweils zwei aus jedem Kollektiv) die detaillierte Größenverteilung, entsprechend der mit dem Partikelgrößenspektrometer ermittelten Werte, betrachtet und hieraus mit Hilfe der Hatch-Coate Conversions (Hinds, 1999) die volumenäquivalenten Durchmesser für die einzelnen Probanden bestimmt. Der Vergleich der über das einfache Partikelgrößenverhältnis ermittelten Masse mit den aus der gesamten Partikelgrößenverteilung berechneten Werten zeigt eine sehr hohe Korrelation mit einem Regressionskoeffizienten von 0.96. Lediglich für den absoluten Wert der Masse führt die vereinfachte Bestimmung zu einer konstanten Überschätzung der Masse um einen Faktor 2.3. Dies ist vermutlich auf die Festlegung des Klassenmittelwertes für die Grobfraction zurückzuführen, der in der Realität deutlich näher an der unteren Klassengrenze liegt, wie auch den experimentellen Ergebnissen für die Größenspektren zu entnehmen ist. Diese Betrachtungen zeigen, dass die vereinfachende Betrachtung (des Anzahlstroms) zweier Partikelgrößenfraktionen ($< 0.5 \mu\text{m}$, $> 0.5 \mu\text{m}$) eine sehr gute Standardisierung für die Ergebnisse nachfolgender Konzentrationsmessungen ermöglicht. Wird die Klassenmitte der oberen Größenfraktion über geeignete Vergleichsuntersuchungen mit einem höher auflösenden Spektrometer bestimmt, ist darüber hinaus eine genaue Bestimmung des emittierten getrockneten Aerosolmassenstromes möglich und damit der absoluten Mengen emittierter nicht-volatiler Substanzen.

5.2.3.2 Partikelabscheidung über Trägheitsimpaktion

Aus der systematischen Charakterisierung der physikalischen Eigenschaften der endogen in der Lunge generierten exhalierten Aerosole geht hervor, dass das Größenspektrum im Rahmen enger Varianzen für alle Versuchspersonen gleich ist, d.h. insbesondere auch unabhängig vom Gesundheitszustand. Die Partikelgröße liegt überwiegend im submikronen Bereich, wobei die untere geometrische Partikelgröße etwa $0.1 \mu\text{m}$ beträgt. Um Probleme mit dem Abprallen und Abblasen bzw. den Zerfall flüssiger Tröpfchen beim Aufprall, sowie starke Belastungen der empfindlichen Proteine zu vermeiden, werden möglichst geringe Impaktionsgeschwindigkeiten angestrebt. Nach unseren experimentellen Untersuchungen liegt in der Partikelgrößenklasse zwischen 0.1 und $0.2 \mu\text{m}$ (geometrisch) lediglich eine Anzahlfraktion von 10 %, die hinsichtlich ihres Beitrags zum gesamten emittierten Massenstrom vernachlässigbar ist. Dementsprechend wird ein Durchmesser von $0.3 \mu\text{m}$ (aerodynamisch) als geeigneter Wert für die Trenngröße bei der vorliegenden Aufgabe festgelegt. Unter vereinfachender Betrachtung des Luftstroms als inkompressibles Gas ergibt sich hierfür ein notwendiger Probenahmenvolumenstrom von 10 l/min, dies resultiert in einer mittleren Strömungsgeschwindigkeit im Querschnitt an der Austrittsöffnung von 69 m/s. Um sicher zu stellen, dass keine Verluste infolge des Bouncing oder Blow-offs der Partikel von der glatten und festen Impaktionsfläche auftreten, wird die Sammlung des Aerosols als Tröpfchen anstatt als getrocknete Kerne realisiert. Voraussetzung hierfür ist die Abscheidung aus einer wasserdampfgesättigten Umgebung. Entsprechend wird für die Exhalation mit 15 l/min eine Atemflussrate deutlich oberhalb des Probenahmenvolumenstroms gewählt. Weiterhin erfolgt in der Düse aufgrund der Beschleunigung und damit verbunden des Druckabfalls eine deutliche Erhöhung der relativen Feuchtigkeit, so dass eine tröpfchenförmige Abscheidung des Aerosols garantiert ist. Während der Inhalationsphase ($Q_{\text{in}} = 30 \text{ l/min}$) wird weiterhin kontinuierlich

der Probenahmeverbinderstrom durch den Impaktor gesaugt, in dem in etwa Raumluftbedingungen vorliegen (rel. Feuchtigkeit 50 %, Temperatur 22°C). Dieser ungesättigte Luftstrom nimmt in der Abscheideeinheit und in deren Zuleitungen den während der Exhalation auskondensierten Wasserdampf wieder auf, so dass keine Flüssigkeitsansammlungen auftreten.

In der Abbildung 5.26 dargestellt sind die Ergebnisse für die Partikelabscheidung über unterschiedliche Sammeldauer mit nachfolgender immunologischer HSA-Analyse, wobei die Messreihe für die Versuchsperson 1 wiederholt wurde. Für alle Versuchsreihen sind parallel zu dem HSA-Nachweis die zugehörigen Werte für die Partikelanzahl angegeben, die über die simultane Konzentrationsmessung während der Sammlung bestimmt wurden.

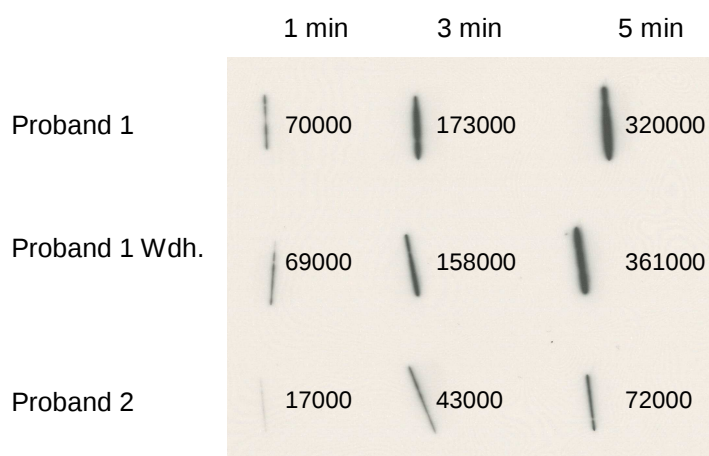


Abbildung 5.26: Ergebnisse immunologischen der HSA-Analyse abgeschiedener exhalierter Aerosole für zwei verschiedene Versuchspersonen über unterschiedliche Abscheidedauer sowie rechts neben den einzelnen Proben aufgetragen der zugehörigen Partikelanzahl.

Die schmale Linie, auf der der Marker erfolgreich nachgewiesen werden konnten, repräsentiert mit einer Breite von etwa 100 bis max. 300 μm exakt die Abscheidefläche unterhalb der Schlitzdüse. Das gesamte Verfahren ermöglicht somit eine genau lokalisierte Abscheidung und Anhaftung der Partikel auf dem Analysensubstrat auf einer Fläche von lediglich max. 6 mm^2 , es tritt keine erkennbare Verschleppung auf. Bereits die rein visuelle Betrachtung mit dem menschlichen Auge legt weiterhin nahe, dass die Nachweisintensität in etwa proportional mit der Partikelanzahl ansteigt und eine gute Reproduzierbarkeit bei diesem Sammelverfahren vorliegt. Die mathematische Darstellung der optischen Dichte (kumulativer Wert für die Nachweisintensität, der sowohl den Schwärzungsgrad als auch die Fläche berücksichtigt) für die beiden Messreihen der Versuchsperson 1 bestätigt diese Befunde (Abb. 5.27). Auch die beiden weiteren untersuchten, stärker diagnostisch relevanten Marker, Surfactant-Protein-D (SPD) und Alpha-1-Antitrypsin (α -1-AT), konnten erfolgreich nachgewiesen werden.

Zusammenfassend zeigen die Ergebnisse, dass die Impaktionsabscheidung exhalierter Aerosole auf einer feinen Linie mittels einer Schlitzdüse eine sehr gut geeignete Alternative für die Sammlung endogen generierter exhalierter Aerosole darstellt. Es ermöglicht unter simultaner Aufzeichnung der Partikelkonzentration und Atemflussrate eine lokalisierte und sehr nachweisstarke, einfach standardisierbare Abscheidung der Partikel für die nachfolgende biochemische Analyse nicht-volatiler Komponenten.

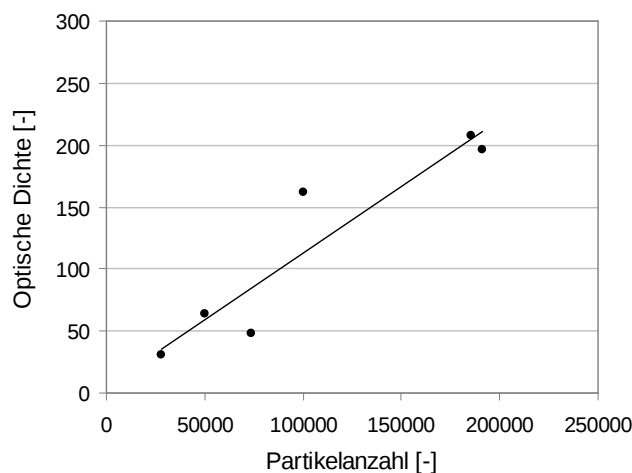


Abbildung 5.27: Optische Dichte für den immunologischen HSA-Nachweis als Funktion der Partikelanzahl mit zugehöriger linearer Regression. Der Regressionskoeffizient beträgt 0.87.

5.3 Zusammenfassung und Diskussion

Wie bereits in der Einleitung erwähnt, beschäftigten sich in dem Zeitraum der Erstellung dieser Arbeit (2008 – 2012) aufgrund des hohen Potentials der Atemanalyse für diagnostische Zwecke noch mehrere andere Arbeitsgruppen in unterschiedlicher Tiefe und Breite mit dem Thema der exhalieren Aerosole, insbesondere im Kontext der biochemischen Analyse nicht-volatiler Komponenten zur immunologischen Untersuchung der Lunge und der Infektionsforschung. Die Publikationslage ist daher an einzelnen Stellen durch zeitgleiche Veröffentlichungen gekennzeichnet, die Überlappung besteht in erster Linie in der Aufklärung des Bildungsmechanismus und der Beschreibung der Tröpfchengröße.

Hervorzuheben sind hier die Forschergruppen an der Universität Göteborg um A.C. Almstrand (Almstrand et al., 2012; Holmgren und Ljungström, 2012; Bredberg et al., 2012; Larsson et al., 2012; Holmgren et al., 2011; Almstrand et al., 2010 A; Almstrand et al., 2010 B; Holmgren et al., 2010; Almstrand et al., 2009), um L. Morawska von der Queensland University of Technology in Brisbane (Morawska et al., 2009; Graham und Morawska, 2009) sowie um D. Edwards von der Harvard University in Massachusetts (Watanabe, 2007; Fiegel et al., 2006; Edwards et al., 2004).

Morawska und Kollegen untersuchen auf rein physikalischem Wege die im Respirationstrakt generierten Aerosole, d.h. Größe und Anzahl, für unterschiedliche Aktivitäten, wie normale Atmung, Sprechen und Husten. Während der Atemmanöver platziert die Versuchsperson den Kopf in einem Windkanal, der mit partikelfreier Luft betrieben wird, die Aerosolmessung erfolgt mit dem APS 3321 der Fa. TSI bei einem Probenahmevolumenstrom von 1 l/min und einem Zeitintervall von 2 Minuten.

Auch die schwedische Gruppe verwendet einen ähnlich komplexen, nicht für klinische Routineuntersuchungen geeigneten Messaufbau für Studien an gesunden Versuchspersonen und Asthmatikern. Hier atmet der Proband unter Verwendung eines Mundstücks und einer Nasenklemme über einen Ast partikelfreie Luft ein, und exhaliert

in ein auf die in der Lunge vorliegenden Umgebungsbedingungen konditioniertes Reservoir ($T = 36^{\circ}\text{C}$, Rel. Luftfeuchtigkeit = 100 %) mit dem Ziel, eine von den Messbedingungen unveränderte Partikelgröße zu erfassen. Für die Analyse der Grobfraction wird zum einen ein Teilstrom von 1.2 l/min aus dem Reservoir über einen optischen Partikelzähler von GRIMM (0.3 – 20 μm , 15 Kanäle, 6 s-Intervall) analysiert, die Untersuchung der feinen Fraction erfolgt mittels eines SMPS-Systems (Fa. TSI 3936, 0.01 μm – 0.43 μm , Volumenstrom 0.75 l/min), wobei simultan die Atemflussraten aufgezeichnet werden. Für biochemische Untersuchungen der aus der Lunge emittierten nicht-volatilen Substanzen mittels Massenspektrometrie, werden die Aerosole über einen 3-stufigen PM10-Impaktor (Fa. Dekati, Trennkorngrößen 0.5, 1.5 und 7 μm) bei einem Probenahmevolumenstrom von 16 l/min über punktförmige Geometrien abgeschieden.

In den Studien von Edwards et al. steht die gezielte Reduktion der Partikelemission aus der Lunge über die Inhalation geeigneter Substanzen zur Modifikation der rheologischen Eigenschaften des Lungenflüssigkeitsfilms im Vordergrund. Die Charakterisierung der physikalischen Eigenschaften erfolgt unter Messung der Atemflussraten über einen optischen 6-Kanal-Partikelzähler Ultimate 100 (Fa. Clime, 0.085 μm - > 0.5 μm), der direkt in den Exhalationszweig integriert ist.

Kürzlich erschienen Studienergebnisse einer Arbeitsgruppe um P. Fabian der Harvard University in Massachusetts, die Untersuchungen an gesunden Personen und an Patienten, die mit Rhinoviren infiziert sind, beschreiben. Unter Verwendung eines optischen Partikelzählers Clime CI-550 (Fa. Clime, 6 Kanäle oberhalb 0.3 μm) werden zeitaufgelöste Untersuchungen analog den von unserer Arbeitsgruppe bereits deutlich vorher veröffentlichten Studien durchgeführt, wobei die Charakterisierung der exhalierten Aerosole in Abhängigkeit der respirationsphysiologischen Parameter weniger systematisch erfolgt. Die grundsätzlichen Befunde sind gleich unseren Beobachtungen (Fabian et al., 2011A; Fabian et al., 2011B).

Bezüglich der allgemeinen qualitativen Aufklärung des Tröpfchenbildungsmechanismus sowie der Beschreibung der Partikelgröße und -anzahl bestätigen die Arbeitsgruppen um Morawska und Almstrand etwa zeitgleich die von uns erhobenen Befunde, sowie die Hypothesen früherer Untersuchungen (Papineni und Rosenthal, 1997; Gebhart et al., 1988): der entscheidende Mechanismus der Aerosolentstehung unter normaler Atmung ist die Wiedereröffnung verschlossener peripherer Atemwegsstrukturen. Lediglich die Gruppen um Edwards und Fabian vermuten im Gegensatz dazu Wechselwirkungen der instationären Luftströmung mit der Flüssigkeitsoberfläche des Surfactantfilms als möglichen Mechanismus – dies widerlegen jedoch sowohl die in der vorliegenden Arbeit durchgeführten systematischen Untersuchungen als auch insbesondere die Studien von Johnson und Morawska (2009). Für die insgesamt niedrigen Partikelkonzentrationen tritt inter-individuell eine hohe Varianz auf, während das Emissionsniveau intra-individuell von der Atemtiefe bzw. Atemlage abhängt, wie bereits kurz vor uns von Almstrand et al. (2009) qualitativ festgestellt und kurze Zeit nach unserer Veröffentlichung der Ergebnisse erstmaliger systematischer Untersuchungen (Schwarz et al., 2009 A) ebenfalls von Johnson und Morawska (2009) und später auch nochmals von Almstrand et al. (2010 A). bestätigt. In der Mehrzahl der Studien sind die beobachteten Tröpfchengrößenspektren für alle Versuchspersonen ähnlich und bewegen sich überwiegend im submikronen Bereich.

Abweichungen ergeben sich seitens Edwards et al. (2004) und Holmgren et al. (2010), die einerseits deutlich höhere Konzentrationen von bis zu 8000 Partikel pro Liter bei Ruheatmung, sowie andererseits eine vorherrschende Partikelgröße im Bereich zwischen etwa 0.1 und 0.2 μm beobachten. Diese widersprüchlichen Ergebnisse erklären sich

höchstwahrscheinlich durch eine Kontamination mit Partikeln aus der Umgebungsluft, die zu einer deutlichen Messwertverfälschung führen. Dies legen auch die z.B. von Edwards ermittelten sehr hohen Partikelkonzentrationen von bis zu 10.000 pro Liter bei Ruheatmung gegenüber einem Wert von maximal 270 pro Liter in unseren klinischen Untersuchungen nahe.

Aufgrund dieser geringen Konzentrationen ist für alle partikelbasierten Untersuchungen im Exhalat des Menschen die absolute Abgeschlossenheit des Systems gegenüber der normalen Raumluft (ca. 5000 pro cm^3) essentiell. Diesem wichtigen Punkt wird erstmalig in unseren Untersuchungen hinreichend Rechnung getragen. Für die kontinuierliche Überwachung der Dichtigkeit können auf sehr einfache Weise die spezifischen Eigenschaften der relevanten Aerosole, genauer gesagt des Größenspektrums, herangezogen werden: die Partikelgröße der Raumluft liegt überwiegend zwischen wenigen nm bis zu etwa 0.5 μm , während sich das Größenspektrum exhalierter Aerosole nahezu unveränderlich zwischen 0.1 und 2 μm bewegt. Somit ist über die Bildung des Konzentrationsverhältnisses zweier Zähler mit unterschiedlichen unteren Detektionsgrenzen zwischen 5 nm und 0.5 μm eine sehr gute Aussage möglich, ob das Analyse-aerosol Partikel aus der Umgebungsluft enthält.

Zusammenfassend bleibt festzuhalten, dass trotz dieser qualitativ meist analogen Ergebnisse, sowohl die Ermittlung der Partikelmessgrößen als auch die Auswertung in den anderen Arbeitsgruppen nicht hinreichend genau und systematisch erfolgen, um eine Basis für die physikalische Nutzung der exhalieren Aerosole für diagnostische Zwecke zu schaffen.

So stellen Johnson und Morawska (2009) und Almstrand et al. (2010 A) lediglich allgemein eine z.T. konstante Zunahme der Anzahlemission bei Ausatmung bis zum Residualvolumen gegenüber der Exhalation bis zur Funktionellen Residualkapazität fest, finden jedoch im Gegensatz zu unseren bereits zuvor veröffentlichten Studienergebnissen (Schwarz et al., 2009 A; Hohlfeld et al., 2009) keine allgemeingültige und vor allem reproduzierbare mathematische Beschreibung für die Partikelemission als Funktion der Atemtiefe. Weiterhin beobachtet Johnson bereits vor uns im Jahr 2009, dass die Partikelgröße im Exhalat mit zunehmender Dauer des Luftanhaltens signifikant sinkt. Er schließt korrekterweise, auch über die Entwicklung eines Depositionsmodells, jedoch ausschließlich für die Alveolen, das eine gute Übereinstimmung mit den experimentellen Werten zeigt, auf das Auftreten sedimentativer Redeposition. Untersuchungen unter variablen Gravitationsbedingungen, insbesondere unter Mikrogravitation für weitergehende Rückschlüsse auf die Eigenschaften der ursprünglich in der Lunge generierten Aerosole, wurden bislang jedoch nicht durchgeführt. Weiterhin liegen bisher keinerlei Untersuchungsergebnisse des gesamten Partikelgrößenspektrums mit hoher zeitlicher Auflösung vor. Häufig kamen Spektrometer wie ein APS der Fa. TSI zum Einsatz, die im relevanten Größenbereich die Partikel nicht oder nur unzureichend erfassen.

Erst im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde die Bedeutung der systematischen und zeitlich aufgelösten Charakterisierung insbesondere der Partikelgröße als entscheidende Voraussetzung für die diagnostische Nutzung der physikalischen Eigenschaften der exhalieren Aerosole erkannt und sowohl von der experimentellen Seite als auch der mathematisch-theoretischen Seite zielführend umgesetzt.

Für die physikalische Charakterisierung der endogen in der Lunge generierten, exhalieren Aerosole wurde der Zielsetzung entsprechend eine Messvorrichtung

entwickelt, die die zeitlich hoch aufgelöste Erfassung (1s-Intervall) des gesamten Partikelgrößenspektrums und der Partikelkonzentration unter simultaner Erfassung der Atemflussraten erlaubt. Somit sind neben atemzugaufgelösten Befunden auch Aussagen zum Verlauf der Messgrößen innerhalb der einzelnen Atemzüge möglich.

Zusammenfassend konnten in den umfangreichen klinischen Untersuchungen, sowohl an gesunden (Raucher und Nichtraucher) als auch an kranken Versuchspersonen (COPD-Patienten und Asthmatiker) für die Tröpfchenemission in und aus der Lunge relevante respirations- und lungenphysiologische Parameter ermittelt werden.

Für die individuelle Versuchsperson sind die endexpiratorische Atemlage und damit verbunden auch das Atemzugvolumen die entscheidenden Faktoren für die Anzahlemission, die Atemflussraten sowie die Anwendung eines Überdrucks haben vergleichsweise geringen Einfluss. Eine abnehmende endexpiratorische Atemlage ist für den individuellen Probanden mit einer deutlichen Zunahme der Aerosolemission verbunden, auch bei der Betrachtung der Gesamtheit der untersuchten gesunden Nichtraucher ist (für $V_T/VC = 0.6$) eine signifikante Zunahme der Partikelanzahl mit Abnahme der Atemlage (FRC/TLC) zu beobachten. Für alle Probanden steigt unabhängig vom Gesundheitszustand die Partikelanzahl pro Atemzug massiv mit dem normierten Atemzugvolumen V_T/VC an, ca. um einen Faktor 100 im Bereich V_T/VC zwischen 0.15 und 0.60. Diese Abhängigkeit lässt sich für alle Personen individuell am besten über eine Potenzfunktion beschreiben: das Emissionsniveau zwischen den einzelnen Probanden unterscheidet sich unabhängig vom Gesundheitszustand um bis zu einen Faktor von 100, während der Exponent der Potenzfunktion inter-individuell vergleichsweise kleine Schwankungen aufweist (Bereich überwiegend zwischen 2.5 – 3.8), aber mit einem Trend in Richtung abnehmender Werte bei kranken Versuchspersonen (COPD-Patienten und Asthmatiker). Für die Partikelkonzentration ergeben sich insgesamt sehr geringe Werte von 3 – 270 pro Liter bei $V_T/VC = 0.15$ entsprechend der normalen Ruheatmung bzw. von 100 – 4000 pro Liter bei tiefer Atmung bei $V_T/VC = 0.7$.

Das über einen Atemzug gemittelte Partikelgrößenspektrum ist hingegen im Rahmen enger Varianzen unabhängig vom Gesundheitszustand der Probanden und liegt überwiegend im submikronen Bereich mit einem Anzahlmedian bei $0.3 \mu\text{m}$. Für den einzelnen Probanden ist das atemzuggemittelte Partikelemissionsmuster (Anzahl und Größe) extrem gut reproduzierbar und stellt somit eine Art „Fingerabdruck“ des aktuellen Lungenstatus der individuellen Person dar. Erst die Entdeckung dieses für jeden Probanden hochspezifischen Charakteristikums im Rahmen der vorliegenden Untersuchungen schafft überhaupt die grundlegende Voraussetzung für die weitere Untersuchung des diagnostischen Potentials der Partikelanzahlanalyse im Exhalat in zukünftigen klinischen Studien, insbesondere für die Verlaufskontrolle von Erkrankungen.

Für die zeitlich hoch aufgelöste Analyse der Größenverteilung über einen individuellen Exhalationsvorgang bei hohem Atemzugvolumen ergeben sich hingegen deutliche Unterschiede zwischen Gesunden, gesunden Rauchern und Patienten mit milder COPD und Asthma. Nachdem das Spektrum der ursprünglich generierten Tröpfchen nahezu invariant ist, weisen die beobachteten Unterschiede auf ein lungenmorphologisch bzw. physiologisch verändertes Redepositionsverhalten der Partikel infolge krankhafter Lungenveränderungen hin, beispielsweise vergrößerte Atemwegsstrukturen oder eine reduzierte Ventilation der Lungenperipherie.

Von besonderer Bedeutung in diesem Zusammenhang sind die Ergebnisse der Untersuchungen der Partikel im Exhalat unter Mikrogravitationsbedingungen, d.h. unter Minimierung der Partikelverluste in der Lunge, die erstmals unmittelbar auf experimentellem Wege Rückschlüsse auf die Anzahl und Größe der Tröpfchen direkt an ihrem Entstehungsort erlauben. Diese zeigen, dass die physikalischen Eigenschaften der exhalieren Aerosole im Wesentlichen von den Eigenschaften der in der tiefen Lunge generierten Aerosole bestimmt werden, sedimentative Ablagerungsprozesse insbesondere während des Exhalationsvorgangs spielen eine vergleichsweise geringe Rolle. So zeigt sich unter Mikrogravitation mit einem Anzahlmedian für den Partikeldurchmesser von 0.4 μm gegenüber 0.3 μm im Erdschwerefeld nur eine sehr geringe Verschiebung des Tröpfchenspektrums in Richtung größerer Teilchen, die Anzahl steigt im Mittel um einen Faktor von etwa 3. Erst diese Ergebnisse ermöglichen überhaupt die Entdeckung und tiefer gehende Rückschlüsse auf das zu erwartende Potential der Partikelgrößenanalyse im Exhalat für die Früherkennung von peripheren Atemwegserkrankungen.

Den Ausgangspunkt sowohl unserer Arbeit (Seume et al., 2006) als auch kurze Zeit später der Gruppe um Almstrand (Larsson et al., 2012; Almstrand et al., 2009) stellt die fehlende Aerosolmassenstandardisierung zur Generierung valider Analysenergebnisse für nachfolgende biochemische Untersuchungen der nicht-volatilen Bestandteile dar.

Aufgrund der bekannten Varianzen im Emissionsniveau sowie der insgesamt sehr geringen Aerosolmassenemissionen realisiert die schwedische Arbeitsgruppe bereits im Jahr 2008 ein Verfahren für eine unverdünnte Abscheidung der exhalieren Aerosole mittels eines 3-stufigen PM10-Impaktors (Fa. Dekati, Trennkorngrößen 0.5, 1.5 und 7 μm) unter simultaner Erfassung der physikalischen Partikeleigenschaften für die notwendige Normierung der Resultate. Die für die Maximierung des Anzahlstroms aus forcierten Atemmanövern gewonnenen Partikel werden auf einem geeigneten festen, in den Impaktor eingelegten Substrat abgeschieden und über eine Time-of-flight Massenspektrometrie analysiert. Dieses Verfahren ist, auch wenn es im Vergleich mit der Atemkondensatsammlung gut standardisierbare und nachweisstarke Analysenergebnisse ermöglicht, mit einer Reihe verfahrensbedingter und technischer Nachteile verbunden: Zum einen erfolgt die Sammlung der Partikel auf einer Vielzahl einzelner Punkte, weiterhin ist ein aufwändiger Transfer des Probenmaterials auf die zu analysierende Probenmatrix notwendig, und das Analyseverfahren selber ist technisch sehr aufwändig und anspruchsvoll und daher sehr zeit- und kostenintensiv für routinemäßige klinische Untersuchungen.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde erfolgreich ein neuartiges Verfahren entwickelt, welches basierend auf einer linienförmigen Abscheidung direkt auf das Analysesubstrat mittels einer feinen Schlitzdüse unter simultaner Massenstandardisierung eine ebenfalls sehr nachweisstarke Analyse, sowie insbesondere eine schnelle und einfache Probenvorbereitung für die nachfolgende biochemische Untersuchung ermöglicht (wie z.B. Immunodetektion).

Aufgrund der insgesamt geringen Partikelemission und damit verbunden schwierigen Nachweisbarkeit der zu analysierenden Substanzen, ist statt der derzeit häufig empfohlenen Anwendung der Ruheatmung während der Sammlung (z.B. Horvath et al., 2005) eine tiefe Atmung zur Erhöhung des Aerosolmassenausstoßes von großer Bedeutung für die Gewinnung valider Ergebnisse. Die Arbeitsgruppe um Almstrand maximiert die Aerosolemission über eine kontinuierliche Durchführung forcierter

Exhalationsmanöver über eine etwa 10-minütige Sammeldauer, wobei mit 50 – 430 ng gegenüber unseren Untersuchungen mit 3 - 107 ng höhere Partikelmassen abgeschieden werden (siehe Abschnitt 7.2). Aus Sicht der Autorin sind jedoch insbesondere für die Untersuchung (lungen)kranker Personen ruhige, nicht forcierte tiefe Atemmanöver aufgrund der geringeren physischen Anstrengung vorteilhaft.

Weiterhin konnten aus der systematisch durchgeführten physikalischen Charakterisierung der exhalierten Aerosole sowohl aus der gesunden als auch aus der kranken Lunge wichtige Aussagen bezüglich der Eignung und Optimierung von Sammelverfahren für die nachfolgende biochemische Analyse der nicht-volatilen Substanzen im Exhalat getroffen werden. So ist aufgrund der sehr hohen Varianzen im Partikelemissionsniveau, das für die individuelle Person auch unter Zuhilfenahme der Lungenfunktionsdaten nicht vorhersagbar ist, die simultane Aufzeichnung der physikalischen Eigenschaften, insbesondere der Partikelkonzentration, für eine Standardisierung der konzentrationsbezogenen Analysenergebnisse unumgänglich. Für sensitive Marker ist die Berücksichtigung des individuellen Partikelgrößenspektrums erforderlich. An dieser Stelle ist jedoch die Ermittlung des Verhältnisses der Partikelanzahl oberhalb 0.5 μm zu der Partikelanzahl unterhalb 0.5 μm für eine sehr genaue Bestimmung des Massestroms ausreichend, eine weitere Auflösung des Größenspektrums ist nicht erforderlich.

Die für die Erfassung der ultrafeinen Partikel geeigneten, kommerziell erhältlichen Kondensationskernzähler sind zum einen sehr teuer und zum anderen meist mit Alkoholen als Kondensationsmedium betrieben, so dass diese für den routinemäßigen Einsatz bei Untersuchungen am Patienten weniger geeignet sind. Daher wurde über die ursprüngliche Planung hinaus ein neuartiges Detektionsverfahren entwickelt, das die Wasserdampfkondensation aus der bereits mit Wasserdampf gesättigten Ausatemluft für das Partikelwachstum ausnutzt. Im Rahmen dieser Arbeit wurde erstmalig ein Prototyp eines solchen atemwasserdampfbasierten Kondensationskernzählers, speziell geeignet für die Messung des Anzahlstroms endogen generierter exhalierter Aerosole am Menschen, fertig gestellt und erfolgreich getestet. Erst die Entwicklung dieses neuartigen, kostengünstigen und einfachen Verfahrens stellt die notwendige Basis für einen möglichen zukünftigen Einsatz der Partikelanalyse im Exhalat, basierend auf der Erfassung von Anzahlströmen, in größerem Umfang dar.

6 Aerosolentstehung und -transport in der Lunge

6.1 Einführung

Im ersten Abschnitt des Kapitels werden anhand der experimentellen Ergebnisse der Charakterisierung exhalierter Aerosole die für die endogene Tröpfchenbildung relevanten Mechanismen abgeleitet. Im folgenden Abschnitt ist der Einfluss des Aerosoltransports und der Ablagerungsvorgänge in den Lungenstrukturen während des Exhalationsvorgangs beschrieben. Die Kenntnis dieser Vorgänge und damit verbunden der genauen Entstehungsorte erlaubt eine erste Einschätzung für die Möglichkeiten einer zukünftigen Diagnostik, basierend sowohl auf den biochemischen als auch den physikalischen Eigenschaften exhalierter Aerosole.

Des Weiteren werden semi-empirische Modelle für die Beschreibung der endogenen Tröpfchenentstehung und des -transports in der Lunge vorgestellt. Diese theoretischen Betrachtungen ermöglichen quantitative Abschätzungen zum Einfluss relevanter aerosolphysikalischer und physiologischer Parameter auf die Eigenschaften exhalierter Aerosole, insbesondere das Größenspektrum.

Für die quantitative Auswertung der experimentell bestimmten Tröpfchengrößenverteilungen sind aufgrund des verwendeten Messverfahrens zwei Einflussfaktoren zu berücksichtigen. Aufgrund der Verdünnung des Exhalatstroms mit Raumluft geringer Feuchte und Wasserdampfdiffusion an die Schlauchwände des Systems, liegt die relative Feuchte in der Messzone des Instruments bei normaler Atmung im Bereich zwischen 70 – 80 %, bei langsamer Exhalation für zeitaufgelöste Partikelgrößenanalysen (10 l/min) bei etwa 50 %. Dies führt zu einer Schrumpfung der in der Lunge unter wasserdampfgesättigten Bedingungen, d.h. einer relativen Feuchte von 100 %, gebildeten Tröpfchen. Da die Lungenflüssigkeit jedoch näherungsweise isotonisch ist (Effros et al., 2005; Verkman, 2001), verdampfen die exhalieren Aerosole aufgrund des stabilisierenden Effekts der enthaltenen Elektrolyte nicht vollständig (Haslbeck und Schwarz et al., 2010). Wird vereinfachend NaCl als Hauptbestandteil der Elektrolyte in der Lungenflüssigkeit betrachtet, ist eine Abschätzung des Einflusses der vorliegenden Sättigungsverhältnisse auf das Größenspektrum der Tröpfchen über die bekannten Abhängigkeiten möglich (Hinds, 1999). Unter den gegebenen Randbedingungen ergibt sich für einen Tropfen einer 0.9%-igen Kochsalzlösung eine Reduktion des Durchmessers um einen Faktor von etwa 2, wobei insbesondere in dem Bereich zwischen 50 und 80 % relativer Feuchte nur sehr geringe Veränderungen der Partikelgröße auftreten. Nicas et al. (2005) und Holmgren et al. (2011) gelangen über die Entwicklung geeigneter Modelle für die entsprechenden Randbedingungen zu ähnlichen Ergebnissen, so dass diese vereinfachende Annahme gerechtfertigt ist.

Der zweite Einflussfaktor auf die Partikelgrößenbestimmung ist auf die Messunsicherheiten in Verbindung mit optischen Größenspektrometern zurückzuführen. Die Klassierungscharakteristik hängt von den optischen Eigenschaften der Teilchen ab, insbesondere im Größenbereich nahe der Lichtwellenlänge des Gerätes (810 nm für das LASAIR II-110). Da sich üblicherweise Zusammensetzung und Struktur des betrachteten Aerosols von den für die Kalibrierung des Instruments eingesetzten Polystyren-Latexpartikeln unterscheiden, ist es denkbar, dass die Größe der exhalieren Teilchen um bis zu einen Faktor von 2 unterschätzt wird (Liu und Daum, 2000; Pinnick et al., 2000).

Eine Abschätzung des Einflusses dieser beiden Messunsicherheiten auf die im Exhalat vorliegenden Tröpfchendurchmesser ist anhand der Ergebnisse für die experimentell bestimmten Partikelgrößenspektren unter variablen Gravitationsbedingungen möglich (Abb. 5.23). Anhand der zeitlich hoch aufgelösten Konzentrationsverläufe der einzelnen Größenfraktionen während der Exhalation ist bereits für die laserspektrometrisch der Größenklasse von $0.3 - 0.5 \mu\text{m}$ zugeordneten Teilchen ein deutlicher Einfluss sedimentativer Ablagerungsprozesse erkennbar, die jedoch in der Realität erst ab einem Partikeldurchmesser von etwa $1 \mu\text{m}$ im Respirationstrakt wirksam werden.

Unter Berücksichtigung dieser theoretischen und experimentellen Überlegungen ergibt sich der Faktor für die Reduktion der Größe der Partikel im Exhalat, unverändert von den vorliegenden Umgebungsbedingungen, zu einem Wert von 2.0. Partikelwachstum durch Koagulation ist aufgrund der extrem geringen Konzentrationen exhalierter Aerosole von maximal bis zu 50 cm^{-3} sicher auszuschließen.

Für den gesamten Abschnitt 6.2 ist zu beachten, dass die Berechnungen und entsprechende Darstellungen der Partikelgrößen auf Basis der tatsächlich generierten Tröpfchengrößen erfolgen.

6.2 Aerosolentstehung in der Lunge

6.2.1 Mechanismus der endogenen Aerosolbildung

Mögliche Mechanismen der Aerosolentstehung in der Lunge, die in der Literatur diskutiert werden, sind einerseits eine Tröpfchenbildung infolge von Scherkräften bei hohen Strömungsgeschwindigkeiten an der Luft-Flüssigkeitsgrenzschicht in den oberen Atemwegen und andererseits die Wiedereröffnung terminaler Atemwegsstrukturen, verbunden mit dem Aufbrechen des Epithelflüssigkeitsfilms (Papineni und Rosenthal, 1997; Gebhart et al., 1988).

Bei der systematischen Charakterisierung der Eigenschaften exhalierter Aerosole stellt sich für alle Personen, unabhängig vom Gesundheitszustand der Lunge, das Atemzugvolumen als die wichtigste Einflussgröße für den individuellen Partikelanzahlstrom heraus. Die Variation der Atemflussraten hat im Gegensatz zu der Atemtiefe einen vergleichsweise geringen Einfluss auf die Partikelemission.

Diese rein experimentellen Beobachtungen der potentiellen Zunahme der Anzahl exhalierter Partikel mit V_T/VC führen uns zu der Annahme, dass die Lungenperipherie, verbunden mit dem Kollaps terminaler Atemwegsstrukturen, die entscheidende Aerosolquelle ist. Die zeitlich hoch aufgelöste Analyse eines individuellen Atemzugs (Abb. 5.16) bei einer Exhalationsflussrate von 10 l/min bestätigt die tiefen Bereiche der Lunge als Entstehungsort der exhalierten Tröpfchen: erst ab etwa 10 % des exhalierten Volumens (entsprechend $0.25 - 0.4 \text{ l}$), d.h. erst mit Beginn der Entleerung peripherer Atemwege, ist ein deutlicher Anstieg der Partikelkonzentration zu verzeichnen (Schwarz et al., 2010 A). Wird für die Abmessungen der Lungenstrukturen das Modell nach Weibel (Weibel, 1963) zugrunde gelegt und eine sukzessive Entleerung der Lunge von zentralen in Richtung peripherer Bereiche angenommen, so entspricht das partikelfreie Volumen etwa dem Abschnitt von der 1. bis einschließlich der 18. Generation.

Somit können wir anhand der Charakterisierung der ausgeatmeten Aerosole unmittelbar in *in-vivo*-Versuchen an der menschlichen Lunge zeigen, dass die endogene

Aerosolbildung unter normaler Atmung sowohl für gesunde Versuchspersonen als auch für Patienten mit obstruktiver Atemwegserkrankung eindeutig in den peripheren Lungenstrukturen mit einem Durchmesser unterhalb etwa 0.5 mm stattfindet.

Es ist daher nahe liegend, dass Variationen im exhaliierten Partikelstrom unmittelbar mit Änderungen der Menge wiedereröffneter Atemwege und somit Änderungen der Verschlusswahrscheinlichkeit der Kapillaren im Zusammenhang stehen müssen (siehe Abb. 6.1).

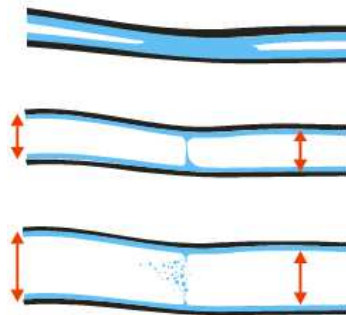


Abbildung 6.1: Tröpfchenbildung in der peripheren Lungenstruktur durch Wiedereröffnung verschlossener terminaler Atemwegsstrukturen (aus Schwarz et al., 2009 C).

Vor mehr als 40 Jahren konnte das Auftreten von Atemwegsverschlüssen in der menschlichen Lunge das erste Mal experimentell nachgewiesen werden (Burger und Macklem, 1968; Dollfuss et al., 1967). Über die Gabe und Detektion von Edelgasboli bzw. Sauerstoff und Stickstoff wurde das sog. Verschlussvolumen (closing volume) bestimmt, welches das Lungenvolumen bezeichnet, in dem Atemwegsverschlüsse auftreten. Bewegt sich das Volumen am Ende eines tiefen Exhalationsprozesses in Richtung Residualvolumen, so kommt es bei gesunden Personen zur Realisierung von Atemwegsverschlüssen, insbesondere bei Unterschreitung des Verschlussvolumens. Hughes et al. (1970) und Macklem et al. (1970) zeigen sowohl über die histologischen Ergebnisse tierexperimenteller Studien als auch über theoretische Berechnungen, dass sich Atemwegsverschlüsse nur auf den Bereich sehr kleiner Atemwege mit einem Durchmesser unterhalb 0.5 mm beschränken. Unsere Untersuchungen über die Partikelanalyse im Exhalat bestätigen genau diese feinen Lungenstrukturen als relevanten Ort der Aerosolentstehung in der menschlichen Lunge.

Eine Tröpfchenbildung durch die Wechselwirkung der Luftströmung mit der Flüssigkeitsoberfläche des Surfactantfilms im Bereich der oberen Atemwege, in denen hohe Strömungsgeschwindigkeiten vorliegen, ist somit sowohl bei der Inhalation als auch bei der Exhalation ausgeschlossen.

Diese aus der Charakterisierung exhalierter Aerosole abgeleiteten Schlussfolgerungen zu dem der Aerosolentstehung zugrunde liegenden Mechanismus bestätigen die Ergebnisse theoretischer Betrachtungen und von Untersuchungen am Modellexperiment. Eine Tröpfchenentstehung infolge der Wechselwirkung einer Gasströmung mit einer Flüssigkeitsoberfläche in einer Kapillare ist nach Untersuchungen von Evrensel et al. (1993) und Kataoka et al. (1983) auf die Entstehung von Kelvin-Helmholtz-Instabilitäten zurückzuführen. Diesen Studien zufolge sind für die Entstehung einer Kelvin-Helmholtz-Instabilität zum einen sowohl in der Flüssigkeits- als auch in der Gasphase hohe

Reynoldszahlen von $Re_l \geq 10^2$ und $Re_g \geq 10^4$ notwendig, und zum anderen ein Verhältnis der Schichtdicke des Flüssigkeitsfilms zum Radius der Kapillare von mindestens 0.1. Für die Reynoldszahl der Gasphase ergibt sich unter Verwendung der Abmessungen der Lungenstrukturen nach dem Lungenmodell von Weibel (1963) bei einer Atemflussrate von 40 l/min (höchster Wert bei normaler Atmung) ein Maximum von lediglich 3500 in der Trachea, das sich in den folgenden Generationen noch erheblich reduziert auf Werte von etwa 5 in den kleinsten luftleitenden Atemwegen. Theoretische Abschätzungen und experimentelle Untersuchungen weisen für die gesunde Lunge auf sehr geringe Werte für die Dicke der Lungenflüssigkeit von lediglich etwa 0.1 – 0.15 μm in den peripheren Bereichen der Lunge und von ca. 6 – 10 μm in den oberen Atemwegen hin (Walters, 2002; Stephans et al., 1996; Rennard et al., 1986). Somit bewegt sich auch das Verhältnis der Filmdicke zum Atemwegsradius über die gesamte Lunge hinweg deutlich unterhalb der für die Entstehung von Kelvin-Helmholtz-Instabilitäten notwendigen Werte.

Nachdem wir eindeutig zeigen konnten, dass die Aerosolentstehung in der gesunden menschlichen Lunge nur auf die Wiedereröffnung kollabierter peripherer Atemwegsstrukturen zurückzuführen ist, ist es einsichtig, dass Änderungen der Verschlusswahrscheinlichkeit unmittelbar den exhalierten Partikelstrom beeinflussen. Die Ergebnisse unserer systematischen Untersuchungen der Aerosolemission in Abhängigkeit unterschiedlicher respirations- und lungenphysiologischer Parameter bestätigen daher die in der Literatur dargestellten Zusammenhänge zwischen Atemwegsverschlüssen bzw. Verschlussvolumen und der Atemlage.

Die detaillierten Untersuchungen zu dem Einfluss der Atemlage auf die Partikelemission zeigen darüber hinaus, dass, neben dem Atemzugvolumen, ein niedriges endexpiratorisches Niveau der zweite entscheidende Parameter für eine vermehrte Aerosolgenerierung ist (Abb. 5.9 und 5.14). Erfolgt aus der Ruheatmung heraus eine tiefe Inhalation, so zeigt sich bei dem folgenden Exhalationsvorgang keine signifikante Zunahme der emittierten Partikelanzahl. Wird im Vorfeld jedoch eine maximale Ausatmung bis zum Residualvolumen, d.h. der minimalen endexpiratorischen Atemlage durchgeführt, so führt dies zu einem erheblichen Anstieg der Partikelemission. Insbesondere zeigt sich für alle Probanden unabhängig vom Gesundheitszustand der Lunge erst bei einer sehr tiefen Atmung, d.h. ab einem Ventilationsquotienten $V_T/VC = 0.6$, ein massiver Anstieg des exhalierten Partikelstroms. Diese Zunahme kann nur auf die mit einer Atemlage nahe der Residualkapazität verbundenen erhöhten Verschlusswahrscheinlichkeit peripherer Atemwege zurückzuführen sein. Diese Ergebnisse liegen in sehr guter Übereinstimmung mit Untersuchungen von Ruff (1974) und Anthonisen et al. (1969), die für das Verschlussvolumen einen altersabhängigen Anstieg von 10 % der Vitalkapazität bei 20 Jahren auf etwa 25 % mit 60 Jahren ermitteln. Der in unseren Studien bei gesunden Probanden beobachtete Trend der Zunahme der Partikelemission mit zunehmendem Lebensalter ist vermutlich mit der verstärkten Neigung zum Verschluss von Lungenstrukturen zu erklären. Interessant in diesem Zusammenhang ist die Korrelation zwischen dem exhalierten Anzahlstrom und dem Verhältnis FRC/TLC : aus der mit sinkendem Verhältnis zunehmenden Partikelanzahl ist auf eine mit der Verschiebung in Richtung Residualvolumen verbundenen erhöhten Verschlusswahrscheinlichkeit peripherer Atemwege zu schließen.

Verursacht wird der Verschluss von Atemwegskapillaren durch oberflächenspannungsgetriebene Instabilitäten, sog. Rayleigh-Plateau-Instabilitäten, des

Epithelflüssigkeitsfilms, der die Lunge auskleidet (Malashenko et al., 2009; Heil et al., 2008). Dabei sind zwei unterschiedliche Mechanismen denkbar: In größeren Atemwegen, in denen die Oberflächenspannung gering ist und folglich keine Deformationen der Atemwege auftreten, ist eine rein fluidmechanische Entstehung einer Flüssigkeitsbrücke durch Rayleigh-Plateau-Instabilitäten denkbar. In kleineren Atemwegen, in denen aufgrund der starken Krümmung deutliche höhere Oberflächenspannungen an der Phasengrenzfläche vorliegen, kann die Komprimierung der Atemwegskapillaren zu einem strukturellen Kollaps führen. Für beide Mechanismen des Atemwegsverschlusses stellt der transmurale Druck, der sich aus der Differenz des Druckes in den Atemwegen und im Pleuraspalt ergibt, eine wesentliche Einflussgröße dar. Mit sinkendem transmuralen Druck während der Exhalation bilden sich vermehrt Flüssigkeitsbrücken, die einen energetisch günstigeren Zustand als die mit Lungenflüssigkeit glatt ausgekleideten Atemwege darstellen. Beim Inspirationsvorgang, d.h. mit ansteigendem transmuralen Druck, kann es zur Wiedereröffnung der beim Expirationsvorgang verstopften Atemwege kommen und damit verbunden der schlagartigen Trennung des Epithelflüssigkeitsfilms. Beide Mechanismen können innerhalb der für einen Atemzug charakteristischen Zeitskalen zum Verschluss von Atemwegskapillaren führen (Johnson et al., 1991).

Die Realisierung eines kontinuierlich positiven Atemwegsdrucks (CPAP = Continuous Positive Airway Pressure) und damit verbunden eines höheren transmuralen Druckes, führt bereits auch bei geringem Überdruck, zu einer signifikanten Verringerung der Partikelanzahlen im Exhalat. Es ist unmittelbar einsichtig, dass das Niveau der Partikelemission in unmittelbarem Zusammenhang mit der Menge der verschlossenen Atemwege steht. Somit identifizieren wir experimentell über die mit der mechanischen Stabilisierung der Atemwegskapillaren verbundene reduzierte Aerosolentstehung unmittelbar an der menschlichen Lunge den strukturellen Kollaps eindeutig als den relevanten Mechanismus des Atemwegsverschlusses (Abb. 6.2).

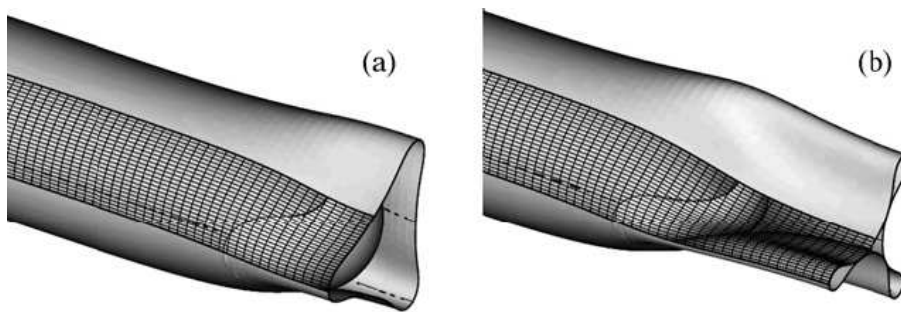


Abbildung 6.2: Struktureller Kollaps eines Atemweges mit Bildung einer Flüssigkeitsbrücke infolge oberflächenspannungsinduzierter Instabilitäten (aus Heil et al., 2008, S. 218).

Unsere Untersuchungen bestätigen die über die Bestimmung der Druck-Volumen-Kurven gewonnenen Ergebnisse, nach denen Atemwegsverschlüsse erst zu Ende des Exhalationsvorgangs innerhalb eines geringen Bereichs sehr niedriger transmuraler Drücke auftreten (Majumdar und Mezic, 2009; Frazer et al., 2004; Salmon et al., 1981). Erfolgt in unseren Studien lediglich die Exhalation gegen einen Überdruck, so ist keine Reduktion des Anzahlstroms zu beobachten. Dieser Befund belegt, dass die kurzen Zeitskalen am Ende des Exhalationsvorgangs bis zum Anstieg des transmuralen Drucks mit der folgenden Inspiration zur Ausbildung der Atemwegsverschlüsse ausreichend sind.

Die Ereignisse der Wiedereröffnung der Atemwege äußern sich auch in sog. Knistergeräuschen (crackles), die durch die Analyse akustischer Signale detektiert und quantifiziert werden. Studien von Alencar et al. (2005) und Piirilä und Ovijärvi (1995) an explantierten Hundelungen zeigen, dass sich die Eröffnungsprozesse bei Überschreiten eines kritischen Druckes bei der Belüftung lawinenartig verstärken. Die hierbei in der Lunge vorliegenden Druckverhältnisse sind über Untersuchungen der Druck-Volumen-Beziehung sowohl an Tier- als auch Humanlungen beschrieben (Milic-Emili et al., 2007; Otis et al., 1996; Salmon et al., 1981). Der mittlere statische transmurale Druck bei dem Verschluss peripherer Atemwegsstrukturen beträgt zwischen -2 und -6 cm H₂O, bei der Wiedereröffnung liegt er im Bereich zwischen +10 und +20 cm H₂O (Abb. 6.3).

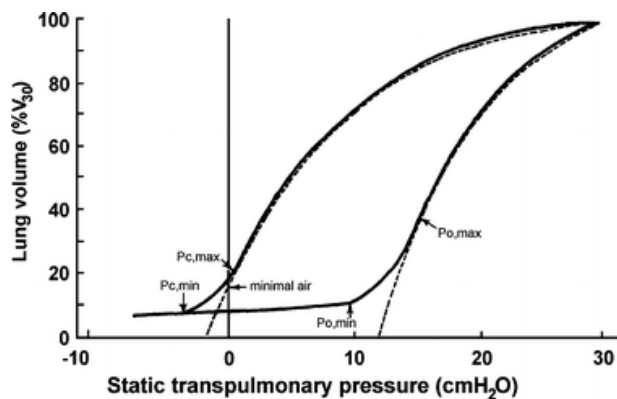


Abbildung 6.3: Druck-Volumen-Beziehung einer explantierten Hundelunge für die Befüllung und Entleerung (aus Milic-Emili et al., 2007, S 569, adaptiert von Glaister et al., 1973).

Die Charakterisierung exhalierter Aerosole in Parabelflügen erlaubt zum ersten Mal Aussagen zum Einfluss der Gravitation auf die Entstehungsmechanismen und die Eigenschaften endogen generierter Aerosole. Sowohl unter 1 g- als auch unter 0 g-Bedingungen ist individuell die endexpiratorische Atemlage, und dementsprechend der transmurale Druck, die entscheidende Einflussgröße auf den Anzahlstrom, wobei das Niveau der Partikelemission nahezu unabhängig von der Gravitationsstärke ist. Dies belegt, dass der im Erdschwerefeld beobachtete Kollaps terminaler Atemwege nicht aufgrund der schwerkraftbedingten Dehnung der Lunge und der daraus resultierenden mechanischen Belastung des Lungengewebes erfolgt.

Anhand numerischer und experimenteller Studien postulieren Cassidy et al. (1999) und Johnson et al. (1991), dass die Dicke des Films für die Entstehung einer Flüssigkeitsbrücke infolge eines rein fluiddynamischen Filmkollaps mindestens 12 % des Kapillarradius betragen muss. Entsprechende Schichtdicken des Epithelflüssigkeitsfilms treten jedoch in der gesunden Lunge an keiner Stelle auf. Daher wird die von uns anhand der systematischen experimentellen Untersuchung exhalierter Aerosole aus der menschlichen Lunge getroffene Schlussfolgerung zu dem für die Entstehung von Atemwegsverschlüssen relevanten Mechanismus auch durch entsprechende theoretische Überlegungen unterstützt: entscheidend für den Verschluss von Atemwegsstrukturen und damit verbunden der endogenen Tröpfchenentstehung sind der strukturelle Kollaps und die Wiedereröffnung peripherer Atemwegsstrukturen. Der Ort des Kollapses muss daher jenseits der knorpelhaltigen Kapillaren, d.h. für die gesunde Lunge jenseits etwa der 12. Generation liegen. In der kranken Lunge, insbesondere bei Vorliegen eines schweren Emphysems, kann der Knorpelanteil in den Atemwegswänden deutlich

reduziert sein, so dass hier auch der Verschluss oberhalb liegender Bronchien denkbar ist (Wright, 1960). Zusätzlich sind Lungenerkrankungen häufig mit vermehrter Sekretbildung verbunden (Nat. Versorgungsleitlinie COPD, 2012), so dass hier auch eine rein fluidmechanische Entstehung von Flüssigkeitsbrücken nicht sicher ausgeschlossen werden kann.

Die Wahrscheinlichkeit der Entstehung von Atemwegsverschlüssen ist somit primär durch den transmuralen Druck in den Atemwegen, die mechanischen Eigenschaften der Atemwege und die rheologischen Verhältnisse in dem Epithelflüssigkeitsfilm gegeben. Für letzteres spielen insbesondere die Menge des Surfactants, bzw. die Dicke der Surfactantschicht, sowie die Zusammensetzung eine entscheidende Rolle. Somit könnten Änderungen der mechanischen Eigenschaften der Lunge oder eine Abnahme der oberflächenspannungsreduzierenden Wirkung des Surfactants, wie sie bei verschiedenen Lungenerkrankungen, aber auch mit zunehmendem Alter auftreten (Milic-Emili et al., 2007; Niewoehner et al., 1974), die Aerosolentstehung und Eigenschaften der exhalierten Tröpfchen beeinflussen. Theoretische Untersuchungen legen zudem nahe, dass insbesondere bei einer erhöhten Viskosität der Lungenflüssigkeit die Atemwege auch über mehrere Atemzyklen verschlossen bleiben können und nicht notwendigerweise grundsätzlich im folgenden Exhalationsschritt wiedereröffnet werden (Gaver et al., 1990).

6.2.2 Beschreibung des Mechanismus und relevanter Einflussgrößen bei der Aerosolentstehung über das Verhalten dünner Flüssigkeitsfilme

Die systematische Charakterisierung der Partikelanzahlemission und des vollständigen Tröpfchengrößenspektrums identifiziert die Wiedereröffnung kollabierter terminaler Atemwegsstrukturen als relevanten Mechanismus der endogenen Aerosolentstehung sowohl für den gesunden als auch den kranken Menschen.

Ein wichtiger Teilaspekt der weiteren Aufklärung der Vorgänge ist die Unterscheidung zwischen der Erzeugungsrate der Partikel und ihrer Redepositionsrate in den feinen Lungenstrukturen während des Exhalationsvorgangs. In dem zu erwartenden relevanten Größenbereich ist die Sedimentation im Erdschwerefeld der dominierende Mechanismus für die Redeposition (siehe Abschnitt 4.1). Unter Mikrogravitation ist somit die partikelgrößenabhängige Redepositionsrate auf ein Minimum reduziert, so dass über die Messung des Anzahlstroms und des Größenspektrums auf die Eigenschaften des ursprünglich in der Lunge generierten Aerosols zurück geschlossen werden kann. In den entsprechenden Untersuchungen unter variablen Gravitationsbedingungen (0 g und 1 g) zeigen sich für alle Probanden nur geringe Unterschiede im Partikelemissionsmuster. So ist unter Mikrogravitation eine leichte Zunahme des Tröpfchenanzahlmedians auf 0.74 μm gegenüber 0.62 μm unter terrestrischen Bedingungen zu beobachten mit einer supermikronen Fraktion von etwa 20 % im Bereich zwischen 1 – 5 μm . Insbesondere fällt bei der Analyse der Größenspektren unter Schwerelosigkeit auf, dass die inter-individuelle Variabilität des anzahlbezogenen Medianwertes der Partikelgröße mit einem Variationskoeffizienten von etwa 5 % sehr gering ist und bei normaler Atmung unter Einfluss der Schwerkraft aufgrund der sedimentativen Abscheidung der supermikronen Teilchen nur noch leicht auf etwa 4 % absinkt. Der anzahlbezogene Medianwert unter

Mikrogravitationsverhältnissen ist für gesunde Nichtraucher und gesunde Raucher mit 720 nm (Nichtraucher) gegenüber 710 nm (Raucher) identisch.

Die Betrachtung der Gesamtheit der Ergebnisse der Aerosolcharakterisierung im Exhalat, insbesondere unter Mikrogravitationsbedingungen, ermöglicht unmittelbar eine detaillierte Vorstellung und Beschreibung der Vorgänge der Tröpfchenbildung in der Lunge unter normaler Atmung.

Im ersten Schritt führt die mit der Inhalation verbundene Expansion der verstopften oder kollabierten Atemwegskapillare zu einer zunehmenden Ausdünnung der vorliegenden Flüssigkeitsbrücke. Das Verhalten dieser sog. dünnen Flüssigkeitsfilme wird bereits seit Jahrzehnten im Zusammenhang mit der Stabilität von Schäumen und der Entstehung von Seesalzaerosolen umfassend theoretisch und experimentell untersucht (Russell und Singh, 2006; Reinke et al., 2001; Ruckenstein und Jain, 1974). Mit zunehmender Abnahme der Filmdicke während des Inhalationsvorgangs entstehen durch thermische Fluktuationen Wellen im Flüssigkeitsfilm, so dass sich Instabilitäten ausbilden (Sharp, 1984; Vrij und Overbeek, 1968). Die in der Lungenflüssigkeit enthaltenen oberflächenaktiven Substanzen wirken diesen Instabilitäten entgegen und üben einen stabilisierenden Effekt auf den Film aus, so dass kein instantaner Zerfall auftritt. Das Verhalten solcher Emulsionsfilme wird entscheidend von den Wechselwirkungen zwischen abstoßenden van-der-Waals-Kräften und stabilisierenden oberflächenspannungsbedingten sowie elektrostatischen Wechselwirkungen infolge der vorliegenden Elektrolyte zwischen den beiden Flüssigkeitsoberflächen bestimmt, daneben spielen auch Wechselwirkungen kurzer Reichweite eine Rolle (Manev und Nguyen, 2005; Hunter, 1994; Derjaguin, 1989; Jain et al., 1978). Mit zunehmender Ausdünnung des Films wird schließlich bei Erreichen der sog. kritischen Filmdicke ein Zustand kinetischer Instabilität realisiert, bei dem es durch spontan anwachsende Wellen zum Aufbrechen des Flüssigkeitsfilms kommt (Manev und Nguyen, 2005; Scheludko, 1962).

Diese kritische Filmdicke hängt nach Manev und Nguyen (2005) wesentlich von den rheologischen Eigenschaften der Flüssigkeit, wie der Oberflächenspannung und der Viskosität, und dem Durchmesser des Flüssigkeitsfilms, d.h. des Atemwegs, ab. Sie berechnet sich für einen Schaumfilm nach

$$h_c = \frac{(kT)^{1/12} (A/6\pi)^{1/3}}{\eta_l^{1/6} \sigma^{1/4} \alpha^{1/6}} R^{2/15}, \quad (6.1)$$

wobei kT die molekulare thermische Energie als Produkt der Boltzmann-Konstante mit der Absoluttemperatur, A die Hamaker-van-der-Waals-Konstante der molekularen Wechselwirkung, σ die Oberflächenspannung, η_l die dynamische Viskosität, α die Rate der Volumenabnahme und R der Filmradius sind.

Wenngleich der überwiegende Teil der experimentellen und theoretischen Ergebnisse primär auf Schaumfilme zwischen zwei Gasblasen bezogen ist, folgern die Autoren, dass sie u. a. für Emulsionsfilme verallgemeinert werden können.

Im Folgenden werden die von Manev und Nguyen ermittelten Zusammenhänge daher für eine Abschätzung der Größe der in den kleinen Atemwegen durch das Aufplatzen des Surfactantfilms gebildeten Tröpfchen und insbesondere der relevanten Einflussgrößen auf diese angewendet. Von wesentlichem Interesse ist dabei die Bedeutung der rheologischen Eigenschaften der Lungenflüssigkeit sowie der Morphometrie der

Atemwege, um den Einfluss krankheitsbedingter Veränderungen dieser Parameter auf die Aerosolentstehung abzuschätzen.

Für gesunde Personen ergeben sich am Ende der Inhalation, d.h. beim Aufplatzen des Lungenflüssigkeitsfilms Werte von etwa 10 bis max. 30 mN/m für die Oberflächenspannung (Goerke, 1992). Bei Lungenerkrankungen kann die Oberflächenspannung durch Störungen in der Surfactantbildung deutlich ansteigen, auf Werte von max. bis zu ca. 40 mN/m (z.B. Griesse et al., 2004; Dargaville et al., 1996). Für die dynamische Viskosität wird für gesunde Personen nach King ein mittlerer Wert von 20 mPas gewählt (King et al., 2002). Angaben für die kranke Lunge sind der Literatur nicht zu entnehmen, so dass hier nur eine Annahme getroffen werden kann. Im Gegensatz dazu gibt es sowohl für die gesunde als auch die kranke Lunge detaillierte Untersuchungen zu den Abmessungen der peripheren Atemwegsstrukturen, primär über bildgebende Diagnostikverfahren, wie MRT und CT, und mikroskopische Methoden. Für den gesunden Probanden bewegt sich der Durchmesser in den relevanten peripheren Regionen etwa im Bereich zwischen 0.6 mm in den terminalen Bronchiolen und 0.3 mm in den feinsten Atemwegen (Weibel, 1963; Haefelibleuer und Weibel, 1988). Bei Vorliegen einer COPD kann sich der Durchmesser der kleinen Bronchien und Bronchiolen infolge der chronischen Entzündungsvorgänge deutlich um bis zu einen Faktor von 3 verringern. Vermutlich führt die hieraus resultierende erschwerte Ausatmung zu der häufig bereits schon im Frühstadium beobachteten dauerhaften Überblähung des Lungengewebes, verbunden mit einer Zunahme der Dimensionen der peripheren Atemwegsstrukturen (Emphysembildung). So zeigt sich für Probanden mit leichter bis mittelschwerer COPD eine Zunahme des effektiven Atemwegsdurchmessers auf bis zu 0.8 mm, für Patienten mit schwerem Emphysem steigt der Wert auf bis zu 1.2 mm (McDonough et al., 2011; Quirk et al., 2011; Hogg, et al., 2009; Yablonskiy et al., 2009; Beinert et al., 2005). Aus den bekannten krankhaften Veränderungen der Lungenmorphometrie geht hervor, dass die Atemwegsdimensionen, in denen eine Aerosolentstehung denkbar ist, um rund einen Faktor 5 im Bereich zwischen etwa 0.2 und 1 mm schwanken können.

Weiterhin zeigen theoretische und experimentelle Untersuchungen, dass sich die Werte für die übrigen Parameter $k_B T$, α (Angarska et al., 2007) und A (Coons et al., 2005) auch für sehr unterschiedliche Stoffsysteme und somit physikalische Eigenschaften vergleichsweise nur geringfügig ändern. Für wässrige Lösungen oberflächenaktiver Substanzen berichten Simulescu und Angarska über Werte der kritischen Filmdicke im Bereich von 30 nm ($\sigma = 32$ mN/m, $\mu = 8.9 \cdot 10^{-4}$ Pas, $R = 150$ μ m) (Simulescu et al., 2008; Angarska et al., 2007). Somit lässt sich der Einfluss der unterschiedlichen Parameter auf die kritische Filmdicke unmittelbar durch die direkte Skalierung näherungsweise berechnen.

In der Abbildung 6.4 sind die Ergebnisse der Parameterstudie für die kritische Filmdicke für unterschiedliche Dimensionen der Atemwege D sowie unter Variation der rheologischen Eigenschaften der Lungenflüssigkeit dargestellt.

Es ist deutlich erkennbar, dass sich der Wert der kritischen Filmdicke auch bei deutlicher Änderung der verschiedenen lungenphysiologischen Einflussgrößen, die in diesem Umfang lediglich bei einem schweren Grad der Erkrankung auftreten, nur geringfügig ändert. Dies ist auf die entsprechend der Gleichung 6.1 sehr schwache Abhängigkeit der kritischen Filmdicke sowohl von den rheologischen Eigenschaften der Flüssigkeit als auch dem Filmradius zurückzuführen. Für eine Abschätzung der insbesondere im Rahmen der chronisch-obstruktiven Atemwegserkrankung auftretenden Veränderungen des Verhaltens des zerfallenden Flüssigkeitsfilms und damit verbunden der physikalischen

Eigenschaften der Tröpfchen sind zwei gegenläufige Tendenzen zu beobachten: so resultiert die Erhöhung der dynamischen Viskosität und der Oberflächenspannung in einer Abnahme der kritischen Filmdicke, wobei die gleichzeitig mit der Überblähung verbundene Vergrößerung der Atemwegsstrukturen zu einer Zunahme der kritischen Filmdicke führt. Dementsprechend sind für den Prozess der Tröpfchenentstehung und insbesondere das resultierende Tröpfchengrößenspektrum keine signifikanten Unterschiede zwischen Gesunden und Lungenkranken zu erwarten.

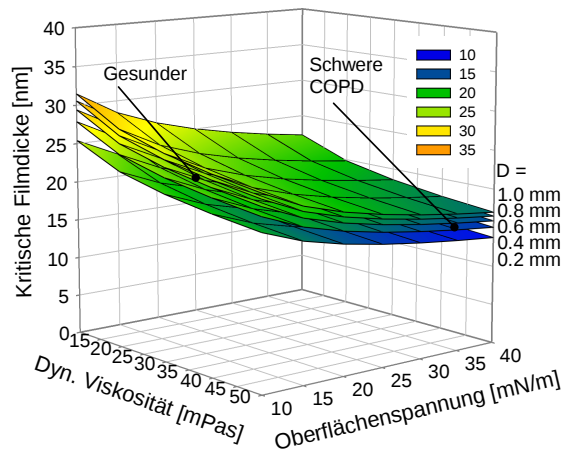


Abbildung 6.4: Kritische Filmdicke des Surfactantfilms als Funktion der dynamischen Viskosität und der Oberflächenspannung in Abhängigkeit des Filmdurchmessers D , d.h. der Atemwegsdimension.

Vereinfachend werden für die folgende Abschätzung des bei dem Filmzerfall entstehenden Tröpfchengrößenspektrums die Wandbewegung und der Einfluss der Luftströmung in den Kapillaren vernachlässigt.

Nach Manev und Nguyen (2005) ist für einen Filmdurchmesser bis zu 0.2 mm von einer über das gesamte Ortsprofil gleichmäßigen Ausdünnung, d.h. einer konstanten Filmdicke, auszugehen. Erst für größere Filme treten zunehmend Abweichungen vom ebenen Profil auf, z.B. bis zu etwa 25 % für einen Film einer wässrigen Tensidlösung mit einem Durchmesser von 2 mm. Für die vorliegenden Randbedingungen ist jedoch die Annahme einer über das gesamte Filmprofil konstanten Filmdicke für eine hinreichende Genauigkeit der Ergebnisse ausreichend.

Für die Stabilität eines dünnen Flüssigkeitsfilms ist die Wellenlänge der durch thermische Fluktuationen induzierten Störungen entscheidend: ist die Wellenlänge der Störung größer als die sog. kritische Wellenlänge $\lambda_{c, \text{film}}$, ist der Film instabil. Dies ist auf die Zunahme der freien Energie des Films zurückzuführen, die ausreichend ist, um die stabilisierenden Oberflächenspannungskräfte zu überwinden (Majumdar und Mezic, 1998; Jain et al., 1978; Vrij und Overbeek, 1968). Diese kritische Wellenlänge lässt sich entsprechend theoretischer Überlegungen von Vrij und Overbeek (1968) nach folgender Gleichung berechnen:

$$\lambda_{c, \text{film}} = 2\pi \sqrt{\frac{\pi \sigma h^4}{A}}, \quad (6.2)$$

wobei A die Hamaker-van-der-Waals-Konstante, σ die Oberflächenspannung und h die Filmdicke darstellen.

Die Kinetik des resultierenden Filmzerfalls wird von der am schnellsten anwachsenden Filmgröße, der sog. dominanten Wellenlänge λ_d , bestimmt. Diese ergibt sich in Gegenwart größerer Surfactantmengen (Jain et al., 1978; Ruckenstein und Jain, 1974) zu:

$$\lambda_{d, \text{film}} = \sqrt{2} \lambda_{c, \text{film}} \quad (6.3)$$

Bei Erreichen einer kritischen Amplitude zerbricht der Flüssigkeitsfilm schließlich in Kreissegmente mit einer radialen Breite von $\lambda_{d, \text{film}}/2$ entsprechend Abbildung 6.5. Diese zeigt den Zerfall eines in einem Ring aufgespannten dünnen Seifenfilms, der in der Mitte über eine feine Spitze aufgestochen wird. In den entstehenden feinen Ligamenten bilden sich ebenfalls hydrodynamische Störungen aus, die zur Bildung von Wellen führen. Nach Erreichen einer kritischen Amplitude zerfallen die Bänder schlussendlich in stabile Fragmente, aus denen sich die Tröpfchen bilden (Lhuissier und Villermaux, 2009; Wu et al., 2007).

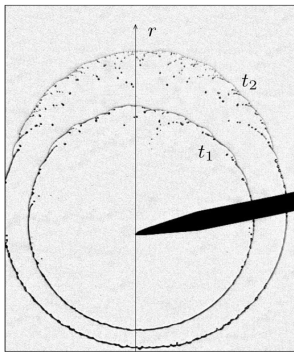


Abbildung 6.5: Zerfall eines in einem Ring aufgespannten dünnen Seifenfilms, der in der Mitte über eine feine Spitze aufgestochen wird (aus Lhuissier und Villermaux, 2009, S. 472).

Für den bei der Aerosolentstehung in der Lunge vorliegenden Zerfallsmechanismus eines ruhenden Flüssigkeitsfilms konnten der Literatur keine Zusammenhänge für die Berechnung der entstehenden Tröpfchengröße entnommen werden. Daher werden im Folgenden die von Wu et al. (2007) aus theoretischen Untersuchungen für den Filmzerfall einer lamellenbildenden Düse ermittelten Beziehungen für die Bestimmung der aus dem Aufbrechen der Kreisingsegmente bei der Wiedereröffnung der Atemwegsstrukturen entstehenden Tröpfchengröße herangezogen (Abb. 6.6).

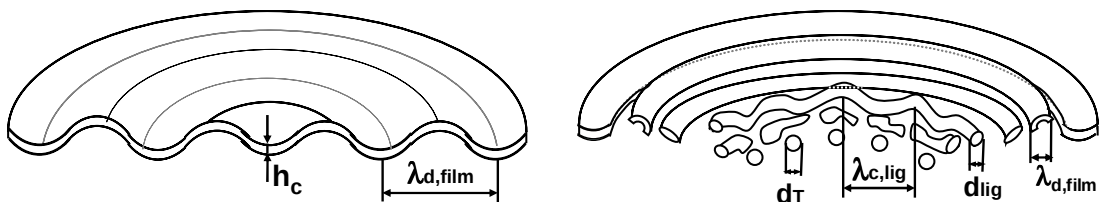


Abbildung 6.6: Ausdünnender Flüssigkeitsfilm, in dem infolge thermischer Fluktuationen Wellen mit der kritischen Wellenlänge $\lambda_{d, \text{film}}$ induziert sind, kurz vor dem Zerfall (links) und unmittelbar nach dem Zerfall nach Erreichen der kritischen Amplitude (rechts).

Hierbei wird im ersten Schritt zugrunde gelegt, dass sich bei dem Filmzerfall Kreislänge der Dicke h_c und einer radialen Breite von $\lambda_{d, \text{film}}/2$ bilden. Das Volumen ergibt sich zu:

$$V = \pi \left(R_{\text{break-up},i}^2 - \left(R_{\text{break-up},i} - \frac{\lambda_{d, \text{film}}}{4} \right)^2 \right) h_c . \quad (6.4)$$

Wird das Volumen dieses Segments einem Zylinder entsprechender Länge gleichgesetzt, so ist ein Äquivalenzdurchmesser d_{lig} für die Ligamente bestimmbar:

$$V = 2\pi \left(R_{\text{break-up}} - \frac{\lambda_{d, \text{film}}}{4} \right) \frac{\pi}{4} d_{\text{lig}}^2 . \quad (6.5)$$

Über eine Stabilitätsanalyse für die Zylindersäule unter Berücksichtigung der Oberflächenspannung und der Viskosität ergibt sich nach Wu et al. (2007) eine kritische Wellenlänge $\lambda_{c, \text{lig}}$ für den Zerfall des Ligamentes von

$$\lambda_{c, \text{lig}} = \pi \sqrt{2} d_{\text{lig}} . \quad (6.6)$$

Hieraus berechnet sich über die Massenerhaltung der Tropfendurchmesser aus dem Filmzerfall entsprechend zu

$$d_T = d_{\text{lig}} \left(\frac{3\lambda_{c, \text{lig}}}{2} \right)^{1/3} . \quad (6.7)$$

Die Ergebnisse einer entsprechenden Parameterstudie mit Variation der Oberflächenspannung und dynamischen Viskosität sind als Funktion des Atemwegsdurchmessers in Abb. 6.7 dargestellt.

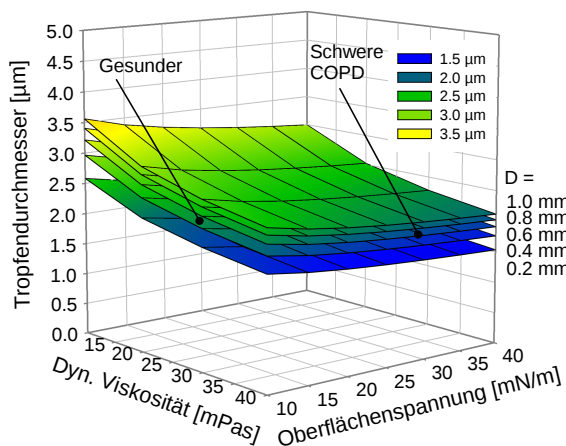


Abbildung 6.7: Tropfendurchmesser der beim Filmzerfall entstehenden Partikel als Funktion der dynamischen Viskosität und der Oberflächenspannung in Abhängigkeit des Filmdurchmessers D .

Es ist erkennbar, dass auch bei einer deutlichen Änderung der rheologischen Eigenschaften der Lungenflüssigkeit sowie des Filmdurchmessers nur geringe Schwankungen für die resultierende Tröpfchengröße auftreten. Diese bewegt sich sowohl für die in der gesunden Lunge als auch in der kranken Lunge zu erwartenden Randbedingungen i. d. R. im Bereich zwischen etwa 1.7 und 2.5 μm .

Aufgrund des dominanten Einflusses der kritischen Filmdicke sinkt analog den bekannten Abhängigkeiten die Tröpfchengröße mit steigender Oberflächenspannung und Viskosität, sowie abnehmendem Atemwegsdurchmesser leicht ab. So zeigt sich beispielsweise bei einem Atemwegsdurchmesser von 0.4 mm für die im Rahmen krankhafter Lungenveränderungen realistischerweise anzunehmenden maximalen Änderungen der rheologischen Eigenschaften (σ : 20 $\rightarrow$ 35 mN/m; η : 20 $\rightarrow$ 40 mPas) eine Abnahme der Tröpfchengröße um 22 % von 2.29 auf 1.79 μm , die nach unserer Vorstellung jedoch durch die größeren Atemwegsdimensionen in der kranken Lunge in etwa ausgeglichen wird.

Die über den Zerfall dünner Flüssigkeitsfilme berechnete generierte Tropfengröße bei der Wiedereröffnung kollabierter terminaler Atemwege stimmt sehr gut mit den Ergebnissen unter Mikrogravitation, d.h. bei Minimierung der Partikelreposition, überein: sie liegt genau im Bereich der Grobfraction der gemessenen Größenverteilung.

Für eine theoretische Abschätzung des maximal möglichen entstehenden Durchmessers wird die Annahme getroffen, dass die im ersten Schritt entstehenden Kreisinge nicht weiter zerfallen, sondern jeweils einen stabilen Tropfen bilden. Die entsprechenden Ergebnisse sind in der Abb. 6.8 als Funktion der rheologischen Eigenschaften der Lungenflüssigkeit in Abhängigkeit des äußeren Kreisingradius $R_b/R_{\text{break-up}}$ dargestellt. Für einen Atemwegsdurchmesser von 0.4 mm (linke Abb.) beträgt die oberste zu erwartende Tropfengröße etwa 5.0 μm und steigt für einen Kapillardurchmesser von 1.0 mm auf bis zu 7.5 μm (rechte Abb.). Diese rechnerisch ermittelten Werte stimmen exakt mit den unter Mikrogravitationsverhältnissen ermittelten Werten überein, die einen maximalen Durchmesser von etwa 6 μm zeigen.

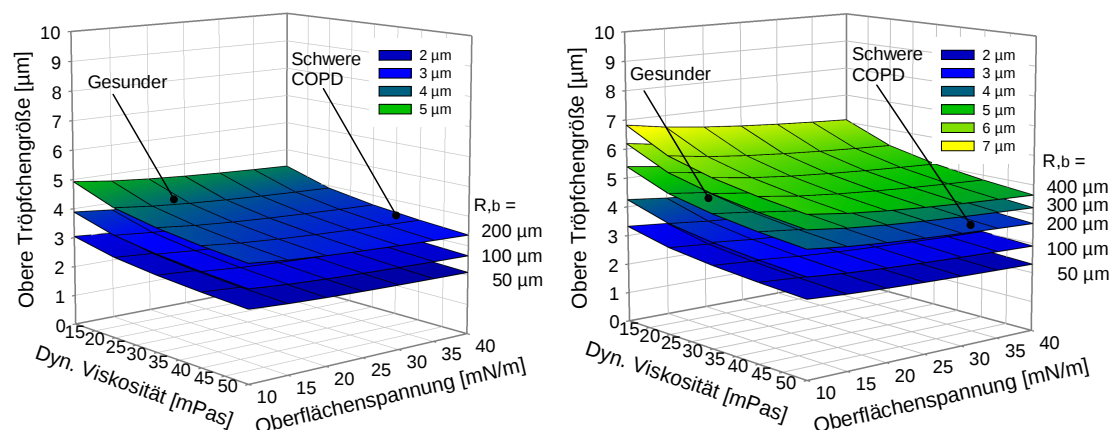


Abbildung 6.8: Oberer Tropfendurchmesser der beim Filmzerfall entstehenden Partikel als Funktion der dynamischen Viskosität und der Oberflächenspannung in Abhängigkeit des Kreisringradius R_b für einen Filmdurchmesser von 0.2 mm (links) und 1.0 mm (rechts).

Komplette Spektren des zu erwartenden Aerosols können an dieser Stelle jedoch nicht ermittelt werden: zum einen ist unbekannt, inwieweit eine partikelgrößenabhängige Impaktionsabscheidung infolge einer Beschleunigung während des Entstehungsprozesses der Tröpfchen an den anliegenden Atemwegswänden stattfindet, zum anderen ist eine theoretische Analyse der Größe der bei dem Zerfall zusätzlich entstehenden Satellitentröpfchen nicht möglich. Nach Tjahjadi et al. (1992) ist der Zerfall eines Flüssigkeitsligamentes stets mit der Bildung von Satellitentröpfchen verbunden, deren Spektrum sich im Bereich unterhalb etwa 40 % des Durchmessers des Primärtropfens bewegt.

Diese Erkenntnisse liegen in guter Übereinstimmung mit den numerischen Berechnungen der endogenen Tröpfchenentstehung des Instituts für Turbomaschinen und Fluidodynamik der Universität Hannover, die eine Größenverteilung überwiegend im submikronen Bereich mit einem Anzahlmedian von etwa $0.4\ \mu\text{m}$ zeigen (Haslbeck, 2011; Haslbeck und Schwarz et al., 2010).

Aufgrund der komplexen Vorgänge beim Zerfall dieser dünnen Flüssigkeitsfilme ist eine theoretische Bestimmung der zu erwartenden Anzahl an generierten Partikeln trotz der bekannten Dimensionen des Flüssigkeitsfilms nicht möglich. Ursache hierfür ist, dass der Zerfall im Zentrum des Films beginnt und sich der resultierende mit dem Atemweg verbundene Kreisring oberflächenspannungsbedingt zunehmend an die anliegenden Wände der Atemwege zurückzieht und somit ein wesentlicher Teil des Flüssigkeitsvolumens nicht mehr für die Tröpfchenbildung zur Verfügung steht (Lhuissier und Villiermaux, 2009). In experimentellen Untersuchungen ermitteln Holmgren et al. (2012) für den Zerfall eines in einem Ring aufgespannten Films einer wässrigen Surfactantlösung eine sog. spezifische Tröpfchenbildungskapazität. Diese bewegt sich für eine Lösung mit einer Oberflächenspannung ähnlich den in der Lunge bei der Inhalation zu erwartenden Werten für einen Ringdurchmesser im Bereich zwischen 1 – 8 mm bei etwa $0.4\ \text{Tropfen/mm}^2$. Die Größe der gealterten, d.h. geschrumpften, Tröpfchen liegt dabei übereinstimmend mit den eigenen theoretischen und experimentellen Untersuchungen bei etwa $0.3\ \mu\text{m}$. Für die in der gesunden Lunge vorliegenden Dimensionen der relevanten peripheren Atemwegsstrukturen zwischen 0.2 und 0.6 mm ergäbe sich somit unter Annahme einer konstanten Tröpfchenbildungskapazität eine Partikelanzahl von lediglich 0.013 bis 0.028 pro Filmzerfall. Die Annahme einer durchschnittlich resultierenden Partikelanzahl pro wiedereröffnetem Atemweg im Bereich zwischen mindestens 0.2 und 3.5 nach Untersuchungen von Holmgren et al. (2010) ist höchstwahrscheinlich nicht korrekt, da sie vermutlich auf fehlerhaften Messungen der Partikelkonzentration infolge der Kontamination mit Raumluft beruht.

Mit einer durchschnittlichen Tröpfchenbildungszahl von lediglich etwa 0.02 pro Filmzerfall geht gegenüber der theoretisch aus dem zur Verfügung stehenden Volumen an Lungenflüssigkeit ermittelten Anzahl an Tropfen im Bereich zwischen 150 und 2500 ein extrem geringer Anteil von unter 1 Promille in die Tröpfchenphase über. Dieser extrem geringe Wert lässt die auf den ersten Blick überraschend kleinen Anzahlen exhalierter Aerosole gegenüber der um ein Vielfaches höheren Anzahl terminaler Atemwegsstrukturen plausibel erscheinen. Wird die Partikelanzahl pro Atemzug als Maß für die Anzahl an Atemwegsverschlüssen/verschlossenen Atemwegen herangezogen, so ergeben sich bei einem Ventilationsquotienten von 60 % in Abhängigkeit von dem Atemwegsdurchmesser D Werte von $875 - 306250$ ($D = 0.6\ \text{mm}$), $1\ 975 - 69\ 1250$ ($D = 0.4\ \text{mm}$) bzw. $7\ 950 - 2\ 782\ 500$ ($D = 0.2\ \text{mm}$), entsprechend einer Anzahlemission von $100 - 35000$ über das gesamte untersuchte Kollektiv. Somit tritt der Verschluss von

terminalen Atemwegsstrukturen sowohl für die gesunde als auch die kranke Lunge in einem im Vergleich zur Anzahl der vorhandenen Atemwege deutlichen Umfang auf.

Dieses Beispiel dient jedoch nur einer Veranschaulichung und groben Einschätzung der Zusammenhänge zwischen Partikelemission und des Umfangs des in der Lunge auftretenden Kollaps von Atemwegen. Eine genaue Abschätzung der Menge und des Ortes verschlossener Atemwege und somit des Umfangs nicht ventilierter Bereiche ist aufgrund der zahlreichen und komplexen Einflüsse nach dem derzeitigen Wissensstand nicht möglich: einerseits ist der Ort des Atemwegskollaps unbekannt und andererseits ist nicht bekannt, inwieweit z.B. innerhalb eines Pfades mehrere Verschlüsse in Folge auftreten. Dennoch lässt die im Vergleich zu der Anzahl der endständigen Atemwege bzw. Alveolen geringe Anzahl exhalierter Aerosole vermuten, dass der Ort der Aerosolentstehung nicht in den äußersten, sondern in den etwas proximaler gelegenen Strukturen auftritt. Nachdem, wie im vorherigen Abschnitt beschrieben, der strukturelle Kollaps der entscheidende Mechanismus des Verschlusses sein muss, ist der Ort der Partikelbildung jenseits der knorpelhaltigen Atemwegsstrukturen, d.h. für die gesunde Lunge in den Bronchiolen im Bereich der 12. – 16. Generation, zu vermuten.

In Gegenwart hoher Mengen an Surfactant ergibt sich die charakteristische Zeit für das Wachstum der dominanten Wellenlänge, τ_{film} , bis zum Filmzerfall zu

$$\tau_{film} = 96\pi^2 \sigma \eta_i h_0^5 A^{-2}, \quad (6.8)$$

wobei σ die Oberflächenspannung, η_i die Viskosität und h_0 die sog. stabile Filmdicke sind, unterhalb der sich Wellen im Flüssigkeitsfilm entwickeln können (Jain et al., 1978). Diese beträgt nach Valkovska (Valkovska et al. 2002) etwa den anderthalbfachen Wert der kritischen Filmdicke h_c . Weber (1931) gibt weiterhin eine Beziehung für die Bestimmung der Zerfallszeit der gebildeten Kreissegmente an,

$$\tau_{lig} = 24 \left(\frac{2\rho_l}{\sigma} \right)^{1/2} \left(\frac{d_{lig}}{2} \right)^{3/2}, \quad (6.9)$$

bei der ρ_l die Dichte der Flüssigkeit darstellt.

Die charakteristischen Zerfallszeiten liegen mit maximal 0.6 ms deutlich unterhalb den für den Inhalationsvorgang typischen Zeitskalen, so dass für die Abbildung der Wiedereröffnung kollabierter terminaler Atemwegsstrukturen die Annahme eines spontanen Filmzerfalls infolge von Instabilitäten berechtigt ist und der Einfluss der Luftströmung in den Kapillaren sowie der Wandbewegung als vernachlässigbar betrachtet werden können.

Hinsichtlich der zu erwartenden Partikelgrößenspektren lassen sich die Vorgänge bei der Wiedereröffnung kollabierter terminaler Atemwegsstrukturen sehr gut über das Verhalten dünner Flüssigkeitsfilme abbilden. Diese Betrachtung ermöglicht richtungsweisende Erkenntnisse auf die in der menschlichen Lunge gebildeten Tropfengrößen und insbesondere ihrer Variation infolge krankheitsbedingter Änderungen der rheologischen Eigenschaften sowie der Lungenmorphometrie. So zeigt sich, in Übereinstimmung mit den Ergebnissen für gesunde Nichtraucher und Raucher unter Mikrogravitation, dass die generierte Tröpfchengröße unabhängig von den

Randbedingungen nahezu invariant ist und im Bereich von etwa 1 μm liegt. Ursache hierfür ist, dass die generierte Tröpfchengröße in erster Linie von der kritischen Filmdicke des aufplatzenden Flüssigkeitsfilms bestimmt wird, die wiederum nur eine sehr schwache Abhängigkeit von der Oberflächenspannung, der Viskosität und dem Filmdurchmesser aufweist. Folglich ist anzunehmen, dass sich das in der krankhaft veränderten Lunge generierte Tröpfchengrößenspektrum nicht signifikant von dem gesunder Vergleichspersonen unterscheidet. Diese Erkenntnisse sind von entscheidender Bedeutung für die Bewertung der Ergebnisse für die zeitlich hoch aufgelöste Messung des Größenspektrums für die verschiedenen Kollektive unter terrestrischen Bedingungen (siehe Abschnitt 7.1.2).

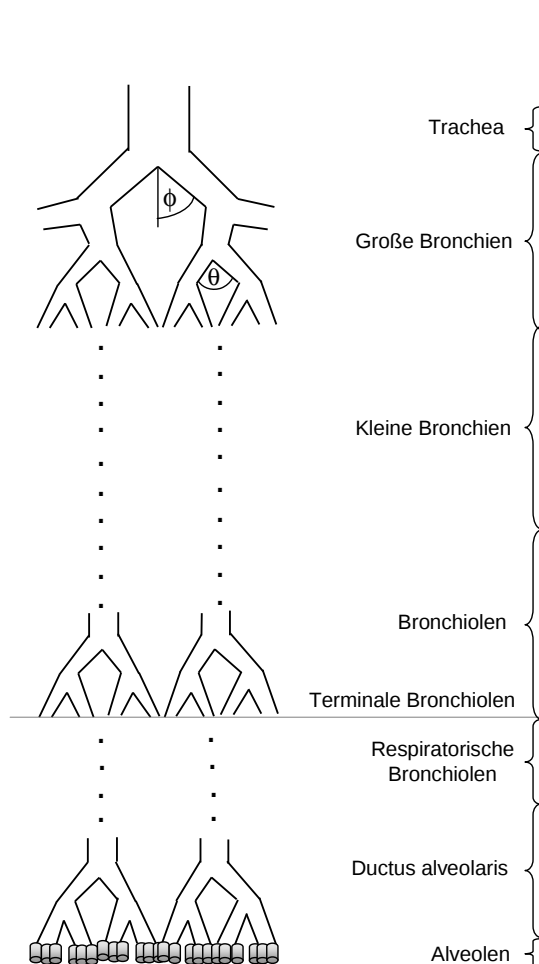
Die gezielte Untersuchung des Einflusses der rheologischen Eigenschaften der Lungenflüssigkeit über die Inhalation einer vernebelten Kochsalzlösung (1.5 ml einer 0.9%-igen Lösung) bestätigt diese Befunde: für die Charakterisierung der exhaliierten Aerosole vor und nach der Applikation der Kochsalzlösung, über die eine (vorübergehende) leichte Erhöhung der Oberflächenspannung der Lungenflüssigkeit realisiert werden soll, zeigen sich sowohl hinsichtlich der Anzahlkonzentration als auch des Größenspektrums keine signifikanten Unterschiede. Diese Ergebnisse stehen im Widerspruch zu den publizierten Daten von Watanabe et al. (2007), Edwards et al. (2004) und Fiegel et al. (2006), die in tier- und humanexperimentellen Studien im Durchschnitt über die betrachteten Kollektive eine Abnahme der Anzahl emittierter Aerosole beobachteten, die Größenverteilung bleibt analog unseren Untersuchungen konstant. Dieser Unterschied in den Befunden ist vermutlich auf das weniger standardisierte Untersuchungsverfahren zurückzuführen. So wird zum einen die Atemtiefe, die eine hochempfindliche Einflussgröße auf die Anzahlmission darstellt, nicht berücksichtigt. Zum anderen liegen die Partikelkonzentrationen der Probanden unter Normalatmung rund einen Faktor von 10 über den in unseren Studien beobachteten Maximalwerten, so dass sich die Frage stellt, inwieweit die Dichtigkeit des Systems gegenüber der Umgebungsluft sichergestellt ist. Weiterhin werden von den Autoren fälschlicherweise Rückschlüsse von *in-vitro* Experimenten, die die Aerosolbildung infolge von Scherkräften an der Flüssigkeitsoberfläche abbilden, auf die Partikelbildung bei normaler Atmung gezogen, die jedoch eindeutig dem Filmzerfall bei der Wiedereröffnung kollabierter Atemwegsstrukturen zuzuschreiben ist. An dieser Stelle ist auch zu berücksichtigen, dass die Menge des in den Lungenstrukturen deponierten Salzaerosols möglicherweise nicht ausreichend ist, um eine signifikante Veränderung der rheologischen Eigenschaften des epithelialen Flüssigkeitsfilms zu realisieren.

6.2.3 Beschreibung der lungenstruktur- und ventilationsbedingten Einflüsse auf das Partikelanzahlemissionsmuster

Die systematische Untersuchung der Abhängigkeit der Partikelanzahlemission pro Atemzug zeigt sowohl für die gesunden als auch alle Patienten mit obstruktiver Atemwegserkrankung eine deutliche Zunahme mit dem (normierten) Atemzugvolumen. Für den individuellen Probanden lässt sich der Verlauf der Kurve sowohl im Erdschwerefeld als auch unter Mikrogravitationsbedingungen sehr gut über eine Potenzfunktion beschreiben.

Interessanterweise weist der Exponent dieser Partikelfunktion, im Vergleich zu der hohen inter-individuellen Varianz des Niveaus der Anzahlemission, mit einem Variationskoeffizienten von lediglich 22 % nur geringe Unterschiede zwischen den untersuchten Personen auf, wobei der absolute Wert bei 3.0 liegt.

Um diesen nahezu unveränderlichen Zusammenhang genauer, d.h. möglichst quantitativ, zu analysieren, wird im Folgenden ein geeignetes Lungenmodell für die Analyse der Eigenschaften der exhaliierten Aerosole entwickelt, das sog. Breath Aerosol Model (BAM). Für eine hinreichend genaue Berücksichtigung morphometrischer Veränderungen wird als Grundlage für die Beschreibung der Lungengeometrien das symmetrische Modell nach Weibel herangezogen. In den zentralen Atemwegen beträgt der Verzweigungswinkel θ zwischen 18 und 51°, der Neigungswinkel ϕ gegenüber der Vertikalen liegt zwischen 0 und 60°. In den peripheren Bereichen der Lunge können nach Untersuchungen von Yeh und Schum (1980) eine zufällige Orientierung für die Verzweigungswinkel θ (0 – 90° in zwei Dimensionen) sowie für die Neigungswinkel ϕ (0 – 90° in drei Dimensionen) angenommen werden. Hieraus treffen sie die Annahme eines mittleren Wertes von 45° für den Verzweigungswinkel und von 60° für den Neigungswinkel gegenüber der Vertikalen (siehe Abb. 6.9).



	N	L	D	θ	ϕ
	-	cm	cm	°	°
Trachea	0	12.000	1.800	0	0
Große Bronchien	1	4.760	1.220	33	20
	2	1.900	0.830	34	31
	3	0.760	0.560	22	43
	4	1.270	0.450	20	39
Kleine Bronchien	5	1.070	0.350	18	39
	6	0.900	0.280	19	40
	7	0.760	0.230	22	36
	8	0.640	0.186	28	39
	9	0.540	0.154	22	45
	10	0.460	0.130	33	42
	11	0.390	0.109	34	45
	12	0.330	0.095	37	45
	13	0.270	0.082	39	60
Bronchiolen	14	0.230	0.074	39	60
Terminale Bronchiolen	15	0.200	0.066	51	60
	16	0.165	0.090	45	60
Respiratorische Bronchiolen	17	0.141	0.081	45	60
	18	0.117	0.075	45	60
	19	0.099	0.047	45	60
	20	0.083	0.045	45	60
Ductus alveolaris	21	0.070	0.043	45	60
	22	0.059	0.042	45	60
	23	0.050	0.041	45	60
Alveolen	24	0.023	0.023	45	60

Abbildung 6.9: Modifiziertes, symmetrisches Lungenmodell nach Weibel (1963) und Yeh und Schum (1980) für das Breath Aerosol Modell mit Darstellung der sequentiellen Aufteilung der Atemwege und Alveolen. Rechts sind die für die Berechnungen verwendeten Dimensionen der Atemwegssegmente, sowie die Neigungs- und die Verzweigungswinkel für die einzelnen Generationen angegeben.

Die Annahmen der Symmetrie des Lungenbaums, sowie der konstanten Dimensionen der Strukturen in den einzelnen Lungentiefen stellen jedoch gegenüber den tatsächlich vorliegenden Verhältnissen eine gewisse Vereinfachung dar. Dennoch ist dieses Modell eine gute Abbildung der Realität und ermöglicht die Entwicklung vergleichsweise einfacher Depositionsmodelle, die beispielsweise eine quantitative Beschreibung des Einflusses der verschiedenen Parameter (Atemzugvolumen, Atemflussraten) erlauben.

Für das Breath Aerosol Model mit dem Ziel der Beschreibung der lungenstruktur- und ventilationsbedingten Einflüsse auf das Partikelanzahlemissionsmuster werden folgende Randbedingungen zugrunde gelegt (siehe auch Abb. 6.9):

Lungenmorphologie:

- Grundlage ist die im Weibel-Modell entwickelte Lungenstruktur mit den für einen Standardmann ermittelten Dimensionen bei einem Lungenvolumen von 4,45 l und einer Totalkapazität von 6.4 l (Weibel, 1963), entsprechend einem in der Realität für die gesunde Lunge zu erwartenden atemzuggemittelten Füllungsgrad von etwa 70 %
- die Totalkapazität ist konstant, Anpassung erfolgt über Ventilationsverhältnisse
- 23 Generationen luftleitender Atemwege
- die Alveolen werden als 24. Generation betrachtet, d.h. sie schließen sich ausschließlich an die endständigen Atemwege der 23. Generation an
- die Anzahl der Atemwegsstrukturen ist konstant, d.h. unabhängig vom Lungenvolumen (Weibel, 1963)
- Atemwege und Alveolen werden als Zylinder betrachtet
- die Dimensionen der Atemwege und Alveolen sind konstant, d.h. Expansion/Kontraktion mit Inhalation/Exhalation bleiben unberücksichtigt
- die Länge der Zylinder ist unabhängig vom Füllungsgrad der Lunge konstant
- die Verzweigungs- und Neigungswinkel für die einzelnen Generationen sind Lungenmodellen von Yeh entnommen (Yeh und Schum, 1980; Yeh et al., 1979)
- die morphologischen Randbedingungen sind über die gesamte Lunge homogen

Ventilation:

- sukzessive Befüllung der Atemwegsstrukturen, wobei die Ventilation für alle Bereiche der Lunge homogen ist
- das inhalierte Volumen wird bei jedem Atemzug vollständig ausgeatmet, d.h. im Exhalat sind alle beim vorhergehenden Inhalationsschritt gebildeten Partikel enthalten und die Residualluft in der Lunge ist partikelfrei

Aerosolentstehung und -abscheidung:

- der Atemwegsdurchmesser, d.h. die Dimension des Flüssigkeitsfilms variiert nur geringfügig, so dass die Anzahl der pro Filmzerfall entstehenden Tröpfchen als konstant betrachtet wird (Holmgren et al., 2010)
- die Partikelanzahl pro Atemzug ist proportional der Anzahl durchströmter Atemwegsstrukturen, d.h. innerhalb eines Pfades zwischen Trachea und Alveolarbereich können mehrere Atemwegsverschlüsse auftreten bzw. die Partikelanzahl pro Atemzug ist proportional der Anzahl involvierter Pfade

zwischen Trachea und Alveolarbereich, d.h. innerhalb eines Pfades tritt nur ein Atemwegsverschluss auf

- Atemwegsverschlüsse und die anschließende Wiedereröffnung treten in den aktiv ventilierten peripheren Lungenbereichen auf
- die Gesamt-Redepositionsrate ist, entsprechend den Untersuchungen unter 0 g-Bedingungen, vernachlässigbar gering

Aus diesen Randbedingungen folgt, dass die relative Änderung der pro Atemzug emittierten Partikelanzahl proportional der relativen Volumenänderung ist:

$$N_{AW} = N_p = AV^b, \quad (6.10)$$

und daraus:

$$\frac{dN_p}{N_p} = b \frac{dV}{V}. \quad (6.11)$$

Bei der Betrachtung der Gesamtvolumina der zylinderförmigen Atemwegssegmente für die einzelnen Generationen ergeben sich für den peripheren Bereich ($i \geq 10$) der gesunden Lunge die folgenden Zusammenhänge:

$$V_{i+1} \approx 1.30V_i, \quad (6.12)$$

$$N_{i+1} = 2N_i, \quad (6.13)$$

wobei die genaue Betrachtung einen Anstieg des Verhältnisses von 1.1 in der 10. Generation auf 1.5 in der 23. Generation, sowie einen Wert von 2.76 in der 24. Generation zeigt.

Unter Berücksichtigung dieses Zusammenhangs und der regelmäßigen dichotomen Aufteilung der Atemwege in den einzelnen Generationen folgt für den Zusammenhang zwischen der Anzahl involvierter Atemwege und somit der Partikelanzahl pro Atemzug und dem Atemzugvolumen:

$$N_{AW} = N_p \sim V^{\frac{\ln 2}{\ln 1.3}}. \quad (6.14)$$

Dieser theoretisch über das BA-Modell ermittelte Wert des Exponenten von 2.64 liegt in guter Übereinstimmung mit den experimentell beobachteten Resultaten für den Exponenten der Potenzfunktion (3.0) für die Beschreibung des Zusammenhangs der Anzahlemission und des zugehörigen Atemzugvolumens. Eine denkbare Erklärung für die Abnahme des Wertes des Exponenten der Potenzfunktion bei Personen mit obstruktiver Atemwegserkrankung könnte die Reduktion des Volumenverhältnisses aufeinander folgender Generationen infolge der Überblähung der peripheren Strukturen sein.

Für eine Abschätzung des Einflusses struktureller und ventilatorischer Änderungen, wie sie im Rahmen obstruktiver Atemwegserkrankungen, insbesondere der COPD, auftreten können (siehe Abschnitt 3.3), wird eine entsprechende Parameterstudie durchgeführt. Kurz zusammengefasst sind für die COPD insbesondere die Überblähung peripherer Atemwegsstrukturen und die Reduktion belüfteter Atemwegsstrukturen, verbunden mit der Abnahme des ventilierbaren Volumens, von Bedeutung (z.B. Hogg et al. 2009).

Parameter für Variation der Morphologie:

- gleichförmige Erhöhung der Dimensionen der Atemwege im Acinus
- gleichförmige Reduktion der Anzahl der belüfteten Atemwegsstrukturen über die einzelnen Generationen

Die Ergebnisse lassen sich folgendermaßen zusammenfassen:

- die Zunahme der Dimensionen der peripheren Atemwegsstrukturen führt zu einer Reduktion des Exponenten der Partikel-Potenzfunktion (beispielsweise von 3.2 auf 2.9 bei einer Zunahme der Dimensionen im Acinus um 20 %)
- die entsprechende Abnahme der Anzahl ventilierter Atemwegsstrukturen führt zu einer vergleichsweise geringeren Reduktion des Exponenten
- der Einfluss der absoluten Anzahl der Atemwegsstrukturen und damit verbunden auch der Atemwegsverschlüsse innerhalb eines Pfades ist gering, folglich ist für die Betrachtung der Anzahl-Volumenbeziehung auch die genaue Anzahl der pro Filmzerfall gebildeten Tröpfchen und insbesondere moderate Änderungen, z.B. infolge größerer Filmdimensionen, vernachlässigbar

Zusammenfassend ist neben den experimentellen Ergebnissen auch anhand theoretischer Betrachtungen über das BA-Modell anzunehmen, dass der Einfluss (krankhafter) morphologischer und ventilationsbedingter Änderungen auf den Wert des Exponenten infolge der stets geringen Veränderung der Verhältnisse von Volumen und Anzahl der Atemwegsstrukturen zwischen den aufeinander folgenden Generationen nur geringfügig schwanken kann (Selbstähnlichkeit der Potenzfunktion) und etwa bei 3 liegen muss.

Aussagen zum absoluten Niveau der Anzahlemission sind aufgrund der nicht exakt bekannten Randbedingungen, insbesondere der rheologischen Eigenschaften der Lungenflüssigkeit, der mechanischen Eigenschaften der Atemwegsstrukturen sowie der Ventilation der Lunge, jedoch nicht möglich.

6.3 Aerosoltransport und –reposition in der Lunge

6.3.1 Ablagerungsprozesse endogen generierter Partikel in der Lunge

Anhand der systematischen Charakterisierung der physikalischen Eigenschaften der exhaliierten Aerosole aus der gesunden und kranken Lunge konnte eindeutig die Wiedereröffnung kollabierter terminaler Atemwegsstrukturen als der relevante Mechanismus der endogenen Partikelgeneration während der normalen Atmung

identifiziert werden. Folglich werden die Tröpfchen im ersten Schritt während der Inhalation in den feinen Atemwegen gebildet, bei dem weiteren Einatemvorgang mit dem Luftstrom in den Alveolarbereich transportiert und schlussendlich bei der folgenden Exhalation mit der Ausatemluft nach außen ausgetragen. Es zeigt sich, dass für alle Probanden das Partikelgrößenspektrum überwiegend im submikronen Bereich liegt, mit einer Anzahlfraktion von etwa 2 % oberhalb 1 μm unter terrestrischen Bedingungen, bzw. 10 % unter Mikrogravitation.

Aus diesen experimentellen Untersuchungen, insbesondere den Messungen unter Mikrogravitation, sowie weiteren theoretischen Betrachtungen lässt sich der Einfluss des Transports und damit verbunden der partikelgrößenabhängigen Redepositionsvorgänge in den Lungenstrukturen auf die Eigenschaften der exhalierten Aerosole herleiten. Wird die im Exhalat ermittelte Partikelgröße entsprechend den bei den Messungen vorliegenden Umgebungsverhältnissen um den Faktor 2 korrigiert (siehe Einleitung Kapitel 6), so ergibt sich unter terrestrischen Bedingungen ein Tröpfchenanzahlmedian von 0.6 μm mit einer Anzahlfraktion von etwa 20 % oberhalb 1 μm .

Der Einfluss der sedimentativen Partikelreposition auf die Größenspektren der exhalierten Aerosole wird anhand der Untersuchungen unter variablen Gravitationsstärken (0 g und 1 g) deutlich. Im Erdschwerefeld führt der Einfluss der Sedimentation zu Verlusten der endogen generierten Tropfen in den komplexen Lungenstrukturen, bevorzugt im Größenbereich oberhalb 1.0 μm (Abbn. 5.22 und 5.23). Der Anzahlmedian ursprünglich generierten Aerosole liegt entsprechend bei 0.8 μm mit einem Anteil von etwa 35 % im supermikronen Bereich, Tropfen oberhalb 10 μm treten aber nur sehr vereinzelt auf.

Die kleinsten experimentell beobachteten Tröpfchendurchmesser liegen etwa bei 0.2 μm . Gegebenenfalls entstehende kleinere Partikel würden in der Lunge durch Diffusionsprozesse abgeschieden, so dass sie nicht im Exhalat detektiert werden. Messungen von Darquenne et al. (1997), durchgeführt unter variablen Gravitationsbedingungen, zeigen, dass die durch diffusive Prozesse abgeschiedene Fraktion inhalierter Testpartikel im Größenbereich von 0.5 bis 3 μm partikelgrößenunabhängig bei niedrigen Werten von 10 bis 15 % liegt. Auch für die im Exhalat auftretende Feinfraktion mit einer unteren Tröpfchengröße von etwa 0.2 μm zeigt sich nach entsprechenden Berechnungen von Schwarz et al. (2010 A) basierend auf dem ICRP-Modell, einem Partikeldepositionsmodell für den Respirationstrakt entwickelt von der International Commission on Radiological Protection (ICRP, 1994), dass keine nennenswert höheren Diffusionsverluste zu erwarten sind.

Für die Abschätzung des Einflusses von partikelgrößenabhängigen Impaktionsverlusten auf die Eigenschaften der exhalierten Aerosole wird die Stokeszahl herangezogen. Die Berechnung erfolgt unter Verwendung der typischen Abmessungen des symmetrischen Lungenmodells nach Weibel für einen Standardmann mit einer Totalen Lungenkapazität von 6.4 l (Weibel, 1963) und den relevanten Atemflussraten von bis zu 30 l/min für Inhalation und Exhalation. Sie erreicht ihr Maximum in den oberen Atemwegen im Bereich der 6. – 8. Generation mit einem Wert von 0.035 für einen Tropfendurchmesser von 5 μm , bzw. 0.14 bei 10 μm . Somit treten unter normaler Atmung auch in den zentralen Atemwegen mit hohen Strömungsgeschwindigkeiten keine Impaktionsverluste auf. Partikel im supermikronen Bereich würden ohnehin bereits durch die sedimentative Ablagerung in den feinen Strukturen redeponiert, so dass potentielle Abscheidungsverfahren infolge von Impaktion bei normaler Atmung irrelevant sind.

Zusammenfassend folgt aus den experimentellen Untersuchungen, insbesondere auch unter Mikrogravitationsbedingungen, und weiteren theoretischen Betrachtungen, dass das Spektrum endogen generierter Tröpfchen nicht nur von der Größe der generierten Tröpfchen, sondern auch von partikelgrößenabhängigen Redepositionsvorgängen in den Lungenstrukturen bestimmt wird. Unter Berücksichtigung der Atemwegsdimensionen von etwa 200 – 600 μm in den peripheren Atemwegsstrukturen und typischen Aufenthaltszeiten von mehreren Sekunden bei normaler Atmung folgt, wie zu erwarten, dass für den relevanten Größenbereich die Sedimentation der wesentliche Mechanismus der Redeposition ist. Tröpfchen oberhalb von 1 μm werden effektiv durch die Sedimentation abgeschieden, während die submikrone Tröpfchenfraktion (bzw. die Partikelfraktion $< 0.5 \mu\text{m}$) nahezu keiner Redeposition unterliegt. Somit ermöglichen unsere Untersuchungen unter Mikrogravitationsverhältnissen, d.h. unter Minimierung der Partikelredposition, erstmalig die Abbildung der Eigenschaften der endogen in der Lunge generierten Aerosole unmittelbar an ihrem Entstehungsort in der tiefen Lunge.

Für die folgenden Abschnitte ist zu beachten, dass die Darstellungen der Größenspektren auf Basis der geschrumpften Tröpfchen, d.h. der originalen Messwerte, erfolgen.

6.3.2 Entwicklung eines semi-empirischen Modells für Partikeltransport und -redposition für Parameterstudien zu den Lunge - endogene Aerosole - Wechselwirkungen

6.3.2.1 Beschreibung des Partikeltransportes und der -redposition in der Lunge über ein semi-empirisches Pfadmodell

Die theoretischen und experimentellen Untersuchungen weisen stark darauf hin, dass das Größenspektrum der endogen generierten Tröpfchen invariant ist, insbesondere auch keine Änderungen in Abhängigkeit vom Gesundheitszustand der Lunge auftreten. Unter dieser Annahme können die unter terrestrischen Bedingungen beobachteten Unterschiede der emittierten Partikelgrößenverteilung zwischen Gesunden und Personen mit obstruktiver Atemwegserkrankung nur auf ein verändertes Redepositionsverhalten der bereits generierten Tröpfchen in den komplexen Lungenstrukturen zurückzuführen sein. Die hierfür in erster Linie verantwortlichen sedimentativen Ablagerungsprozesse werden dabei von den Dimensionen der relevanten Atemwegsstrukturen und der Verweilzeit der Tröpfchen bestimmt. Lungenerkrankungen sind bekanntermaßen mit komplexen Änderungen der Morphologie und der Ventilation verbunden, so dass die Vermutung nahe liegt, dass die Unterschiede im Redepositionsmuster solche krankhaften Veränderungen der Lunge abbilden.

Für eine genauere Abschätzung des Einflusses der z. T. sehr komplexen Änderungen auf die emittierten Partikelgrößenverteilungen, wird im Folgenden das Breath Aerosol Model (BAM) um Partikel-Lunge-Wechselwirkungen erweitert. Für eine hinreichend genaue Berücksichtigung morphometrischer Veränderungen wird als Grundlage die Beschreibung der Lungengeometrien das Modell nach Weibel (1963) herangezogen. Die Annahmen der Symmetrie des Lungenbaums sowie der konstanten Dimensionen der Strukturen in den einzelnen Lungentiefen stellen jedoch gegenüber den tatsächlich vorliegenden Verhältnissen eine gewisse Vereinfachung dar. Der Vergleich der Ergebnisse theoretischer Depositionsberechnungen in der Lunge, basierend auf dem Weibel-Modell, mit experimentellen Befunden zeigt eine sehr gute Übereinstimmung (z.B. ICRP, 1994).

Dies legt nahe, dass dieses Modell eine geeignete Abbildung der Realität darstellt und bei der Anwendung für Berechnungen zur Partikelabscheidung sowohl eine qualitative als auch quantitative Beschreibung des Einflusses verschiedener Parameter auf die Deposition erlaubt (siehe Kapitel 3.1 und 4.2). Grundlage für die folgenden Berechnungen der Depositionseffizienzen im Respirationstrakt bilden die von Finlay (2010) in dem Werk „The Mechanics of Inhaled Pharmaceutical Aerosols“ in dem Kapitel „Particle Deposition in the Respiratory Tract“ dargestellten Zusammenhänge. Diesem sind im Wesentlichen auch die Hinweise zu weiterführender Literatur im folgenden Abschnitt der vorliegenden Arbeit entnommen.

Für das Breath Aerosol Model zur Beschreibung des Transportes und der Ablagerung endogen generierter Aerosole werden folgende Randbedingungen zugrunde gelegt:

Lungenmorphologie:

- Atemwege und Alveolen werden weiterhin als Zylinder betrachtet: Nach Untersuchungen von Tsuda et al. (1994) unterscheiden sich für die relevanten Atemflussraten die Depositionseffizienzen räumlich zufällig orientierter, mit Alveolen ausgekleideter Atemwege nicht sehr stark von analog verteilten zylindrischen Strukturen ohne Alveolen mit entsprechend geringerem Durchmesser (Tsuda et al., 1994)
- der mittlere Füllungsgrad, d.h. das atemzuggemittelte Lungenvolumen, ist nur eine Funktion der Atemlage FRC (FRC/TLC) und nicht des Atemzugvolumens

Ventilation:

- das Modell besteht aus einem Inhalations- und einem Exhalationsast: für die Inhalation werden die Depositionseffizienzen in den oberen Atemwegsstrukturen vor dem Ort der Aerosolentstehung gleich 0 gesetzt
- Atemwege und Alveolen sind permanent durchströmte Zylinder ohne Befüllungs- und Entleerungsphasen, d.h. die Kenngröße ist die von Atemzugvolumen und -flussrate abhängige Aufenthaltszeit für die Durchströmung des Segmentes
- die Ventilation ist für alle Bereiche der Lunge homogen und folgt dem First-in-last-out Prinzip (FILO), d.h. die zuerst eingeatmete Fraktion dringt am weitesten in die Lungenperipherie vor und wird zuletzt ausgeatmet
- Inhalationsflussrate = konst. = 30 l/min, Exhalationsflussrate = konst. = 25 l/min
- Hagen-Poiseuille-Strömung (viskose Strömung)

Aerosolentstehung und -abscheidung:

- die Aerosolentstehung erfolgt bei 50 % des eingeatmeten Volumens ($I/V_T = 0.5$)
- Annahme eines invarianten, d.h. vom Gesundheitszustand unabhängigen, Größenspektrums entsprechend der experimentell bei 0 g ermittelten Verteilung
- keine Impaktionsverluste, die Depositionseffizienzen infolge diffusiver und sedimentativer Ablagerungsprozesse werden als Funktion der Partikelgröße für die Lunge ermittelt, Verluste in Mund- und Rachenraum sind vernachlässigbar
- die Randbedingungen sind in allen Pfaden zwischen Trachea und Alveolen gleich, so dass die für einen Pfad berechnete (partikelgrößenabhängige) Depositionseffizienz der Gesamt-Depositionseffizienz der endogen generierten exhalierten Aerosole in den Lungenstrukturen entspricht

Für eine Hagen-Poiseuille-Strömung ergibt sich die Depositionseffizienz infolge von Sedimentation für einen schräg angeordneten Zylinder unabhängig von der Strömungsrichtung zu (Finlay, 2001, nach Heyder und Gebhardt, 1977 und nach Wang, 1975):

$$\eta_{sed} = 2/\pi \left[2\kappa \sqrt{1 - \kappa^{2/3}} - \kappa^{1/3} \sqrt{1 - \kappa^{2/3}} + \arcsin(\kappa^{1/3}) \right] \quad (6.15)$$

$$\text{mit} \quad \kappa = 3/4 \frac{v_{sed}}{u} \frac{L}{D} \cos \theta . \quad (6.16)$$

Die Depositionseffizienz für die diffusiven Ablagerungsvorgänge berechnet sich, z.B. nach Ingham (Finlay, 2001, nach Ingham, 1975) zu:

$$\eta_{diff} = 1 - 0.819e^{-14.63\Delta} - 0.0967e^{-89.22\Delta} - 0.0325e^{-228\Delta} - 0.0509e^{125.9\Delta^{2/3}} \quad (6.17)$$

$$\text{mit} \quad \Delta = \frac{kTC_c}{3\pi\eta_g d_T} \frac{L}{u} \frac{1}{4R^2} = \frac{kTC_c}{3\pi\eta_g d_T} t_A \frac{1}{4R^2} . \quad (6.18)$$

Hierbei stehen k für die Boltzmann-Konstante, T für die Gastemperatur, η_g für die Viskosität des Gases, R und L für Radius und Länge des Atemweges, u für die durchschnittliche Strömungsgeschwindigkeit und t_A für die Aufenthaltszeit des Partikels in dem Segment.

Für die individuelle Generation ergibt sich der Gesamtverlust infolge simultaner diffusiver und sedimentativer Ablagerungsprozesse nach der ICRP (1994) zu:

$$\eta_i = (\eta_{sed,i}^p + \eta_{diff,i}^p)^{1/p} \quad \text{mit } p = 2. \quad (6.19)$$

Die Randbedingungen sind in allen Pfaden zwischen Trachea und Alveolen gleich, so dass die für einen Pfad ermittelte (partikelgrößenabhängige) Depositionseffizienz der Gesamt-Depositionseffizienz der endogen generierten exhalierten Aerosole in den Lungenstrukturen entspricht. Somit erfolgt die Berechnung des exhalierten Größenspektrums auf Basis der bekannten normierten Partikelgrößenverteilung des ursprünglich in der Lunge generierten Aerosols über die partikelgrößenspezifischen Gesamt-Penetrationseffizienzen P_{ges} für die Lunge:

$$P_{ges} = \sum_{i=0}^{24} P_i . \quad (6.20)$$

Variablen allgemein:

- Partikelgröße
- Zeitpunkt der Entstehung während der Inspiration
- Ort (Generation) der Entstehung
- Inhalations- und Exhalationsflussrate
- Atemzugvolumen

Ergebnis:

- exhalierter, normierter Partikelgrößenverteilung

Im ersten Schritt wird für eine grundlegende Überprüfung der Gültigkeit der in dem Modell getroffenen Annahmen zur Abbildung der Verhältnisse in der Lunge eine Parameterstudie analog den klinischen Untersuchungen an den gesunden Versuchspersonen durchgeführt.

Hierfür wird das Spektrum der exhalierten Aerosole in Abhängigkeit des Ventilationsquotienten bestimmt und den experimentell ermittelten Werten für Probanden mit einer dem BA-Modell entsprechenden *TLC* gegenüber gestellt (Abb. 6.10). Es zeigt sich, sowohl für die quantitativen Ergebnisse als auch die qualitativen Trends für die exhalierten Größenspektren, eine sehr gute Übereinstimmung mit den experimentellen Resultaten. Mit zunehmenden Ventilationsquotienten verschiebt sich das Größenspektrum in Richtung kleinerer Partikeldurchmesser und weist eine geringe geometrische Breite auf.

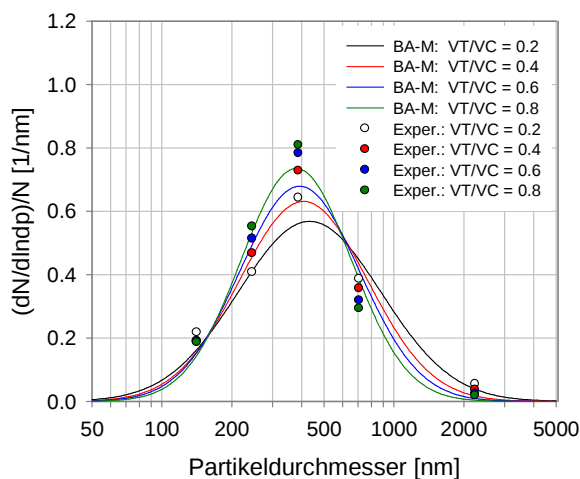


Abbildung 6.10: Vergleich der normierten anzahlbezogenen Größenverteilung theoretisch über das BA-Modell ermittelter Werte mit experimentell bestimmten Werten (Symbole) für eine Totkapazität von ca. 6.4 l in Abhängigkeit des Ventilationsquotienten (Inhalationsflussrate 30 l/min, Exhalationsflussrate 25 l/min).

Diese Ergebnisse legen nahe, dass die im BA-Modell zugrunde gelegten morphologischen, morphometrischen und respirationsphysiologischen Bedingungen die in der realen gesunden Lunge vorliegenden Verhältnisse sehr gut abbilden. Demzufolge ist davon auszugehen, dass über dieses Modell, d.h. mittels theoretischer Parameterstudien, Aussagen zu der Abhängigkeit der Eigenschaften der emittierten Aerosole möglich sind, insbesondere auch für die im Rahmen der Untersuchungen messtechnisch nicht erfassbaren Einflussgrößen, wie Entstehungsort der Partikel oder Veränderungen der Lungenstruktur.

Die Verschiebung der exhalierten Partikelgrößenspektren mit steigendem Ventilationsquotienten ist nahe liegender Weise auf den dominanten Einfluss der äußersten acinären Atemwege und der Alveolen auf die Redepositionsvorgänge, d.h. in erster Linie auf die sedimentativen Ablagerungen, zurückzuführen. Im Gegensatz dazu

treten in den proximalen Strukturen aufgrund der geringeren Aufenthaltszeiten und größeren Dimensionen kaum Verluste auf. Eine orts aufgelöste Betrachtung der Penetrationseffizienzen für die beiden auftretenden Abscheidemechanismen bei einem hohen Atemzugvolumen und einer frühen Aerosolentstehung während der Inhalation ($IV/V_T = 0.3$) verdeutlicht die Abhängigkeiten (Abb. 6.11). Für eine bessere Einordnung sind an dieser Stelle die Ergebnisse auf den Tropfendurchmesser bezogen.

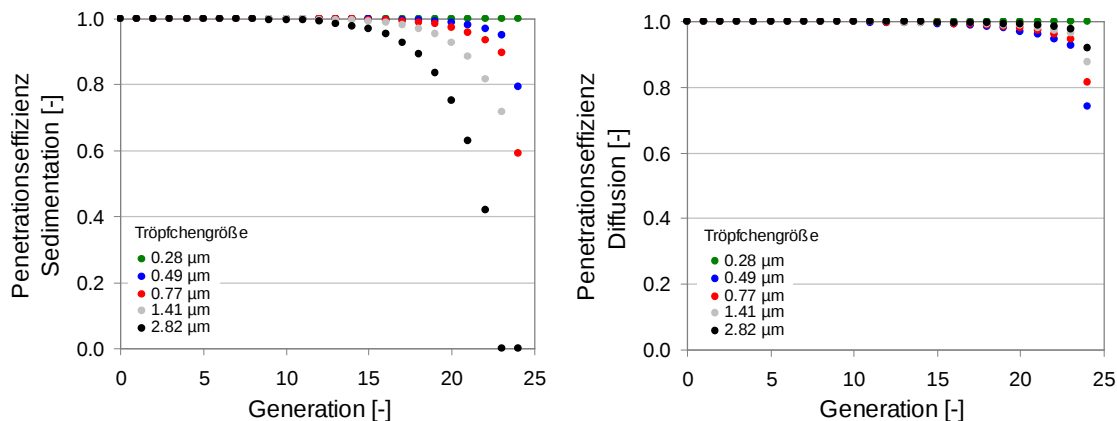


Abbildung 6.11: Tropfengrößenabhängige Penetrationseffizienz während der Exhalation bei einer Flussrate von 25 l/min bei hohem Atemzugvolumen und einer frühen Aerosolentstehung während der Inhalation, d.h. des Transports der generierten Aerosole in die äußersten Generationen unter ausschließlicher Berücksichtigung der Sedimentation (links) bzw. Diffusion (rechts).

6.3.2.2 Einflüsse der Tröpfchenentstehung auf die Eigenschaften exhalierter Aerosole

Sowohl der Zeitpunkt der Tröpfchenentstehung während des Inhalationsvorgangs als auch der genaue Ort der Partikelbildung sind bislang nicht eindeutig identifiziert. Bevor komplexe Studien zu der Auswirkung morphologischer oder ventilatorischer Änderungen durchgeführt werden, ist daher eine Abschätzung des Einflusses dieser beiden Parameter auf die emittierten Größenspektren über das BA-Modell notwendig (Abb. 6.12).

Die Ergebnisse entsprechender Untersuchungen lassen sich wie folgt zusammenfassen:

- die Variation des Entstehungsortes im Bereich zwischen 10. und 23. Generation führt unabhängig von der Atemtiefe nur zu geringfügigen Änderungen des emittierten Größenspektrums
- die Variation des Zeitpunktes der Aerosolentstehung während des Inhalationsvorgangs hat einen deutlichen Einfluss auf die Größenverteilung, v.a. bei höheren Ventilationsquotienten bzw. Atemzugvolumina kommt es bei früher Entstehung zu einer Verschiebung der Größe in Richtung kleinerer Durchmesser

Für die folgenden Parameterstudien wird als Ort der Aerosolentstehung die 15. Generation festgelegt, für den Zeitpunkt der Partikelbildung wird 50 % des inhalierten Volumens als Mittelwert angenommen.

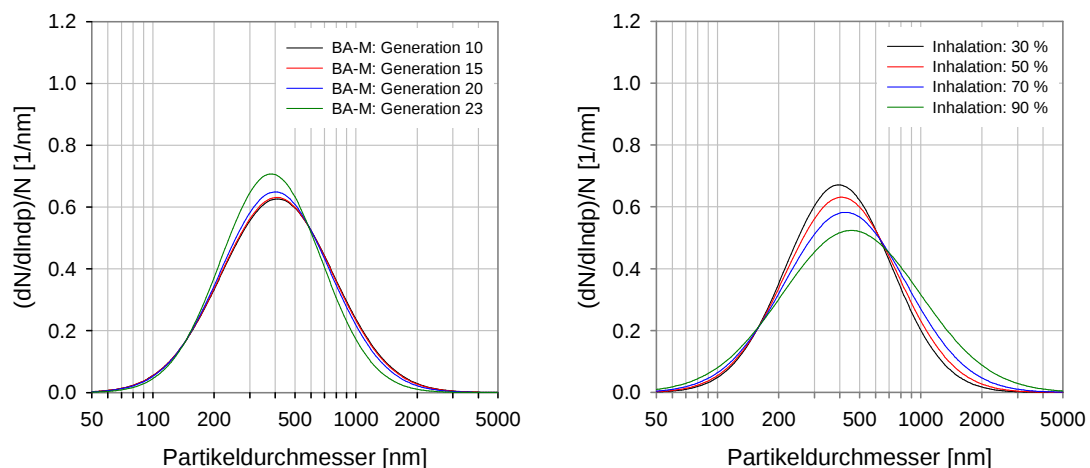


Abbildung 6.12: Über das BA-Modell theoretisch ermittelte normierte anzahlbezogene Größenverteilung in Abhängigkeit des Entstehungsortes (links) und des Entstehungszeitpunktes (rechts) im Inhalationsintervall für ein mittleres Atemzugvolumen entsprechend $V_T/VC = 0.4$ (Inhalationsflussrate 30 l/min, Exhalationsflussrate 25 l/min).

6.3.2.3 Ventilationsbedingte Einflüsse auf die Eigenschaften exhalierter Aerosole

Neben dem Atemzugvolumen wird die Ventilation der Lunge, d.h. Umfang und Lage der belüfteten Bereiche, auch von der Vitalkapazität und der Atemlage beschrieben. Nach Macklem (Macklem, 2010; Macklem und Eidelman, 1990) sinkt mit zunehmendem Schweregrad der COPD bzw. des Lungenemphysems die elastische Rückstellkraft der Atemwegswände, so dass vermehrt Verschlüsse der Kapillaren auftreten. Dies ist, wie auch aus den Ergebnissen unserer bodyplethysmographischen Untersuchungen hervorgeht (Tab. 6.1, Abb. 6.13), mit einer Abnahme der normierten Vitalkapazität VC/TLC und entsprechend einer Zunahme der Atemlage FRC/TLC verbunden (Macklem, 2010; Bates et al., 1966).

Tabelle 6.1: Durchschnittliche Lungenfunktionskenngößen der untersuchten Patientenkollektive, ermittelt über Bodyplethysmographie.

	VC/TLC	FRC/TLC
Healthy	0.69	0.52
COPD I	0.61	0.57
COPD II	0.52	0.64
COPD III/IV	0.40	0.73

Parameter für Variation der Ventilation:

- die Abnahme des maximal ventilierbaren Volumens ist bereits über die Variation des Atemzugvolumens (bei konstanter Totalkapazität) abgebildet

- die Skalierung des Lungenvolumens (Füllungsgrades) erfolgt über die gleichförmige Zunahme der Durchmesser der acinären Atemwege und Alveolen, d.h. der gut dehnbaren Lungenstrukturen

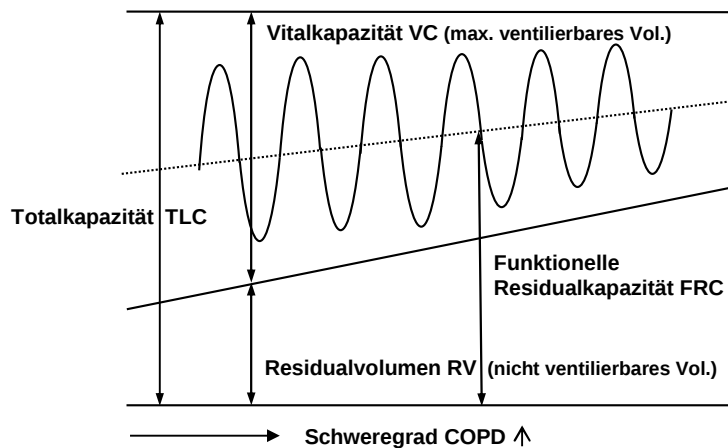


Abbildung 6.13: Lungenvolumina in Abhängigkeit des Schweregrades der COPD.

Entsprechende Berechnungen mit dem BA-Modell zeigen, dass die Atemlage FRC/TLC im relevanten Bereich zwischen 52 – 73 % unter konstantem Atemzugvolumen keinen Einfluss auf die emittierten Größenspektren hat. Dieses Ergebnis liefert einen ersten Hinweis, dass Unterschiede in den Ablagerungsmustern endogen generierter exhalierter Partikel in deutlichem Umfang auf das verminderte ventilierbare Volumen zurückzuführen sind.

6.3.2.4 Lungenstrukturbedingte Einflüsse auf die Eigenschaften exhalierter Aerosole

Neben den Ventilationsverhältnissen beeinflusst das Auftreten einer COPD und damit meist bereits im Frühstadium verbunden eines Emphysems auch die Morphologie der Lunge deutlich.

So verringert sich im Bereich der Bronchiolen mit zunehmendem Schweregrad der Erkrankung der Innendurchmesser um bis zu einem Faktor 3, und die Anzahl offener, d.h. an der Ventilation beteiligter, terminaler Bronchiolen ist um bis zu 90 % reduziert (Hogg et al., 2009). Die mit dieser massiven Querschnittsreduktion verbundene Überblähung der acinären Lungenbereiche führt vermutlich zu der beobachteten deutlichen Zunahme der Dimensionen der Strukturen (Emphysembildung) auf einen effektiven Atemwegsdurchmesser von bis zu 1.1 mm gegenüber 0.3 mm bei Gesunden (Quirk et al., 2011; Yablonskiy et al., 2009; Beinert et al., 1995). Die Erweiterung der Atemwegsstruktur kann primär auf die ersten beiden respiratorischen Bronchiolen (Generation 16 und 17) beschränkt sein (= centriacinäres Emphysem), oder tritt über den gesamten Acinus auf (= panacinäres Emphysem) (Hogg et al., 2009; Gough, 1965).

Für die separate Betrachtung des Einflusses krankheitsbedingter morphologischer und morphometrischer Veränderungen der Lunge auf die exhalierete Größenverteilung erfolgen die Berechnungen unter konstanter Ventilation, d.h. gleich bleibendem

Atemzugvolumen und konstanter Atemlage $FRC/TLC = 52\%$, entsprechend den Werten Gesunder. Folglich beträgt das Lungenvolumen konstant 4.45 l, während die Dimensionen der peripheren Atemwege gleichförmig erhöht und die Anzahl der belüfteten Atemwegsstrukturen entsprechend reduziert werden.

Parameter für Variation der Morphologie:

- gleichförmige Erhöhung oder Erniedrigung der Dimensionen der Atemwege in den entsprechenden Bereichen der Acini
- gleichförmige Reduktion der Anzahl der belüfteten Atemwegsstrukturen

Lediglich bei hohen Atemzugvolumina und einer drastischen Zunahme der Atemwegsdimensionen im Acinus um mindestens einen Faktor von 3 zeigt sich unabhängig vom Ort der Veränderung (centriacinäres $\leftrightarrow$ panacinäres Emphysem) eine im Vergleich zum Einfluss der Ventilation leichte Verschiebung des Größenspektrums in Richtung größerer Durchmesser (Abb. 6.14).

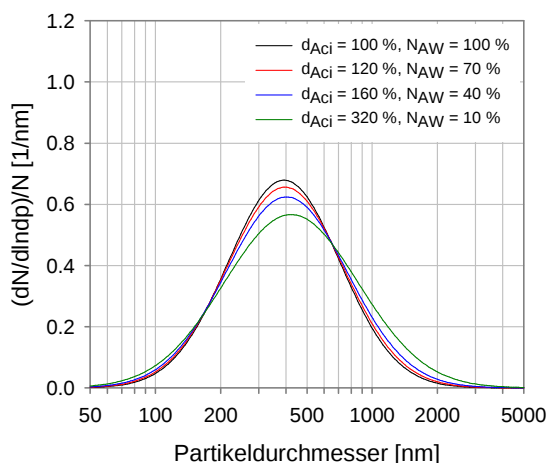


Abbildung 6.14: Über das BA-Modell theoretisch ermittelte normierte anzahlbezogene Größenverteilung in Abhängigkeit des Atemwegsdurchmessers in den Acini bzw. der Anzahl belüfteter Atemwegsstrukturen für ein hohes Atemzugvolumen entsprechend $V_T/VC = 0.6$ (Inhalationsflussrate 30 l/min, Exhalationsflussrate 25 l/min).

6.4 Zusammenfassung und Diskussion

Aus der systematischen experimentellen und theoretischen Charakterisierung der Eigenschaften der exhalierten Aerosole in Abhängigkeit relevanter Einflussgrößen sowohl für die gesunde als auch die kranke Lunge folgt eindeutig, wie bereits von anderen Autoren, z.T. auch in älteren Untersuchungen (Johnson und Morawska, 2009; Papineni und Rosenthal, 1997; Gebhart et al., 1988) vermutet, dass die Tröpfchen in der Lungenperipherie bei der Wiedereröffnung verschlossener Bronchiolen gebildet werden (Haslbeck und Schwarz et al., 2010; Schwarz et al., 2009 A, B, C; Hohlfeld et al., 2009; Almstrand et al., 2009): während der Exhalation kommt es infolge des abnehmenden

pulmonalen Druckes zu einem strukturellen Kollaps peripherer Atemwege, vermutlich etwa im Bereich der terminalen Bronchiolen, und der Bildung von Flüssigkeitsbrücken. Bei der Inhalation, d.h. mit zunehmender Expansion der Atemwegskapillaren, wird die Flüssigkeitsbrücke zunehmend ausgedünnt, bis ein Zerfall des Flüssigkeitsfilms, verbunden mit einer Tröpfchenentstehung, auftritt.

Die später von Holmgren et al. (2010) aufgestellte Vermutung eines zweiten unterschiedlichen Mechanismus der Aerosolbildung in den Alveolen kann nach den hier vorliegenden Befunden ausgeschlossen werden.

Eine erste genauere, jedoch lediglich rein qualitative Beschreibung des konkreten Mechanismus der Tröpfchenentstehung geben im Jahr 2009 Johnson und Morawska (2009). Sie folgern aus ihren Betrachtungen, dass die Aerosolproduktion letztlich auf den Filmzerfall eines dünnen Surfactantfilms analog den aus der Literatur bekannten Vorgängen der Tröpfchenbildung beim Aufplatzen von Blasen, z.B. an der Meeresoberfläche, zurückzuführen ist. Sie liefern jedoch weder für die Tröpfchengröße noch für die Einflussgrößen auf diese eine Beschreibung, so dass keinerlei Rückschlüsse auf Veränderungen bei krankhaften Lungenveränderungen und damit das diagnostische Potential einer Partikelgrößenanalyse möglich sind.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit erfolgt die erste und bislang einzige direkte quantitative Abschätzung der Tröpfchengröße in der Lunge der bei der Wiedereröffnung peripherer Atemwegsstrukturen generierten Aerosole über die Kombination experimenteller Studien, insbesondere unter Mikrogravitation, sowie umfassender theoretisch-mathematischer Betrachtungen.

Die Kernaussage für die Betrachtungen stellt die Erkenntnis dar, dass die Tropfengröße der exhalierten Aerosole unmittelbar auf die kritische Filmdicke, d.h. der Filmdicke, bei der der sich ausdünnende Surfactantfilm in Folge von Instabilitäten aufricht, zurückzuführen ist. Hierauf aufbauend ist erstmals ein detailliertes Verständnis der Vorgänge der Aerosolbildung möglich, sowie darüber hinaus insbesondere auch die Ableitung eines quantitativen Verständnisses für die generierte Tröpfchengröße über die Verwendung bekannter Skalengesetze für das Aufreißen dünner Flüssigkeitsfilme.

Aus diesem neuartigen Ansatz folgt, dass die resultierende Tröpfchengröße nur eine sehr schwache Abhängigkeit von den rheologischen Eigenschaften der Lungenflüssigkeit, wie Oberflächenspannung und Viskosität, und dem Filmradius zeigt, so dass für alle Personen, auch unabhängig vom Gesundheitszustand, nur geringe Varianzen für das Größenspektrum der endogen generierten Aerosole zu erwarten sind.

Die experimentellen Untersuchungen bestätigen die theoretischen Befunde: das über einen Atemzug gemittelte generierte Tropfengrößenspektrum ist für alle Probanden nahezu invariant mit einem Anzahlmedian bei etwa $0.6\ \mu\text{m}$ und einer supermikronen Fraktion von etwa 20 %. Somit werden die Eigenschaften der emittierten Aerosole in erster Linie von den Eigenschaften des generierten Aerosols in der tiefen Lunge bestimmt, in vergleichsweise geringem Umfang beeinflussen jedoch auch Redepositionsvorgänge Anzahl und Größe der Partikel. Entsprechend den vorliegenden Dimensionen der Atemwegsstrukturen und den Aufenthaltszeiten sind die Ablagerungsprozesse im Wesentlichen durch Sedimentation in den acinären Bereichen bestimmt, Impaktionsverluste treten nicht und diffusive Ablagerungsvorgänge nur in geringem Umfang auf. Das Niveau der Partikelemission ist im Gegensatz zur Partikelgröße jedoch nicht vorhersagbar.

Für die Durchführung von Parameterstudien zu den Wechselwirkungen der endogen generierten Aerosole mit der Lunge wurde ein semi-empirisches Pfadmodell, aufbauend auf der Lungengeometrie nach Weibel (1963), entwickelt. Die sehr gute Übereinstimmung zwischen theoretischen und experimentellen Ergebnissen zum Einfluss messtechnisch eindeutig erfassbarer Parameter auf die exhalieren Partikelgrößenspektren lässt vermuten, dass das Modell zumindest für die gesunde Lunge die vorliegenden morphologischen und respirationsphysiologischen Vorgänge gut beschreibt. Somit ist davon auszugehen, dass über das BA-Modell Aussagen zu der Abhängigkeit der emittierten Partikelgrößenspektren, insbesondere auch von messtechnisch nicht erfassbaren Parametern, getroffen werden können.

Diese theoretischen Untersuchungen über das BA-Modell legen nahe, dass der Belüftungszustand der Lunge, d.h. der Ventilationsquotient und der Umfang des aktiv ventilierbaren Volumens, sowie der Zeitpunkt der Partikelentstehung während der Inhalation entscheidend für die Eigenschaften der atemzuggemittelten Größenspektren exhalierter Aerosole sind. Der Einfluss aller weiteren Parameter, insbesondere auch krankheitsbedingter struktureller Veränderungen in der Lunge auf die Partikelgröße, ist vergleichsweise gering.

Die erstmalige Entwicklung eines quantitativen Verständnisses für die Tröpfchengröße endogen generierter, exhalierter Aerosole sowie insbesondere auch die unter Mikrogravitationsbedingungen durchgeführten Untersuchungen liefern an dieser Stelle die entscheidende Voraussetzung für eine potentielle zukünftige Nutzung der physikalischen Eigenschaften exhalierter Partikel für diagnostische Zwecke.

Die in der vorliegenden Arbeit dargestellten Untersuchungen ermöglichen weiterhin detaillierte Aussagen bzw. bestätigen Befunde über den Ort der Aerosolentstehung, die physikalischen und biochemischen Eigenschaften der entstehenden Aerosole, sowie den Einfluss von Redepositionsprozessen auf die Anzahl und Größe der Partikel während des Atemzyklus. Diese bilden die Basis für die diagnostische Nutzung exhalierter Aerosole, insbesondere auch im Hinblick auf die korrekte Interpretation biochemischer Analysenergebnisse der Tröpfchen. In den peripheren Atemwegsstrukturen, in denen die exhalieren Partikel entstehen, ist, wie auch schon Holmgren et al. (2011) in ihren Betrachtungen annehmen, davon auszugehen, dass die Lungenflüssigkeit aus einer wässrigen Phase und der darüber an der Phasengrenzfläche zur Luft liegenden Surfactantschicht besteht (Walters, 2002). Mucus, der die obere Schicht in den luftleitenden Atemwegen darstellt, ist in den für die Aerosolentstehung relevanten peripheren Bereichen der Lunge nicht mehr zu erwarten (Williams et al., 2006). Somit liefern die Ergebnisse biochemischer Analysen der unter normaler Atmung abgeschiedenen exhalieren Aerosole ausschließlich Aussagen über den biologischen Zustand der äußeren Lungenbereiche, wie insbesondere auch über Störungen in der Surfactantbildung oder entzündliche Veränderungen. Die Bestätigung dieser bereits von Almstrand (2009) und Bredberg (2012) stark vermuteten Zusammenhänge ist von herausragender Bedeutung für eine zukünftige Detektion und Verlaufskontrolle vieler Erkrankungen, bei denen die peripheren Strukturen entweder den zentralen Ort des Krankheitsgeschehens oder den Ausgangspunkt früher Lungenveränderungen darstellen.

7 Partikelbasierte Diagnostik von Lungenerkrankungen

7.1 *Physikalische Eigenschaften exhalierter Aerosole*

7.1.1 Atemzuggemittelte Analyse der exhalierten Aerosole

Für die Klärung des diagnostischen Potentials der Analyse endogen generierter, exhalierter Aerosole wurden in klinischen Studien die Partikelanzahl und –größenverteilung für gesunde Raucher und Nichtraucher, sowie bei Patienten mit obstruktiver Atemwegserkrankung (Asthma und COPD) systematisch charakterisiert. Mittels der hohen zeitlichen Auflösung der Messwerterfassung ist erstmalig eine zeitaufgelöste Auswertung der Ergebnisse innerhalb individueller Atemzüge möglich.

Für alle Probanden zeigt sich eine potentielle Zunahme der Partikelanzahl mit zunehmendem Atemzugvolumen, wobei intra-individuell eine sehr hohe Reproduzierbarkeit des Partikelemissionsmusters zu beobachten ist, inter-individuell jedoch eine hohe Varianz im Emissionsniveau auftritt.

Die pharmakologisch induzierte Obstruktion der zentralen Atemwege führt, wie zu erwarten, zu keiner Veränderung des Partikelemissionsmusters gegenüber der Basispartikelfunktion vor der Provokation. Diese nur kurzfristige Reaktion beeinflusst lediglich die oberen Atemwegsstrukturen, die weder auf die Aerosolentstehung noch auf den –transport einen Einfluss haben. Es liegt nahe, dass die im Gegensatz dazu von Almstrand et al. (2012) beobachteten niedrigeren Partikelkonzentrationen gegenüber gesunden Versuchspersonen in dem geringeren durchschnittlichen Lebensalter der Asthmatiker, sowie in der fehlenden genauen Standardisierung des Atemmanövers begründet liegen, eine endgültige Aussage ist an dieser Stelle jedoch nicht möglich.

Auch die Obstruktion der peripheren Atemwege im Rahmen der COPD führt zu keiner signifikanten Änderung, weder des emittierten Anzahlstroms noch der Größenverteilung gegenüber den gesunden Vergleichspersonen. Innerhalb der Kollektive der gesunden Nichtraucher und Raucher ist jedoch eine Korrelation der Partikelemission mit dem Verhältnis Funktionalen Residualkapazität *FRC* zu der Totalkapazität *TLC* festzustellen: mit sinkendem Wert des Quotienten ist eine Zunahme des Anzahlstroms zu beobachten, die nochmals den Verschluss und die Wiedereröffnung peripherer Atemwegsstrukturen als den relevanten Mechanismus der Aerosolgeneration bei normaler Atmung untermauert. Eine aus diesem Zusammenhang zu erwartende Abnahme der Partikelemission für COPD-Patienten lässt sich nicht bestätigen. Dies ist vermutlich auf die sehr komplexen Veränderungen im Rahmen dieser Krankheit zurückzuführen: einerseits treten entzündungsbedingte Störungen des Surfactantsystems auf, verbunden mit einer erhöhten Kollapsibilität der Atemwege und veränderten Eigenschaften der generierten Partikel infolge von Unterschieden der rheologischen Kenngrößen, gleichzeitig ist auch eine Reduktion der Aerosolgeneration aufgrund der Abnahme und Verschiebung der ventilierten Lungenstrukturen in Richtung proximaler Bereiche denkbar, sowie eine Verminderung von Atemwegsverschlüssen infolge der dauerhaften Überblähung der peripheren Regionen.

Im Gegensatz zum Niveau der Anzahlemission zeigt sich für den Exponenten der potentiellen Partikelemissionsfunktion mit dem Atemzugvolumen nur eine geringe Schwankung zwischen den Probanden, wobei jedoch der Wert für die Kollektive der Lungenkranken etwas niedriger ist als für die Gruppe der gesunden Vergleichspersonen (gesunde Nichtraucher 3.30, gesunde Raucher 3.08, COPD I/II 3.00, COPD III/IV 2.90, Asthma 2.55). Diese Ergebnisse liegen in guter Übereinstimmung mit den theoretischen Untersuchungen mittels des neu entwickelten BA-Modells, die nur eine sehr schwache Abhängigkeit des Wertes von den morphologischen und ventilations-bedingten Randbedingungen nahe legen mit einer leichten Abnahme des Wertes bei Überblähung von peripheren Strukturen. Innerhalb der Gruppen der Personen mit obstruktiver Atemwegserkrankung sowie der gesunden Vergleichspersonen liegen jedoch vergleichsweise höhere inter-individuelle Schwankungen vor (2.30 – 4.22 (Gesunde), 1.80 – 4.70 (COPD), 1.84 – 3.87 (Asthma)), so dass der Wert des Exponenten für die Detektion von Erkrankungen ebenfalls nicht nutzbar ist.

Bei der genauen Betrachtung des Partikelgrößenspektrums ist sowohl in den experimentellen Untersuchungen als auch in den theoretischen Betrachtungen über das neu entwickelte BA-Modell insbesondere für hohe Atemzugvolumina eine geringfügige Verschiebung der Tropfchengröße in Richtung größerer Durchmesser für die COPD-Patienten zu beobachten, die jedoch nicht ausreichend sensitiv und spezifisch für diagnostische Zwecke ist.

Für die diagnostische Nutzung der exhalieren Aerosole könnte jedoch die sehr hohe intra-individuelle Reproduzierbarkeit des Partikelemissionsmusters relevant sein. Es ist anzunehmen, dass die Tröpfchenemission charakteristisch für den aktuellen Lungenstatus der Person ist, d.h. sie bildet eine Art „Fingerabdruck“ der Lunge. Folglich ist es denkbar, dass die Partikelanalyse im Exhalat für den individuellen Probanden ein geeignetes Instrument für die Verlaufskontrolle von Lungenerkrankungen bzw. insbesondere auch die Überprüfung der Wirksamkeit von Therapien darstellen könnte. Beispielsweise ist eine Reihe von Krankheiten bekanntermaßen mit einer erhöhten Neigung zum Atemwegskollaps verbunden und somit möglicherweise einer systematischen Veränderung der Partikelgeneration. Aus dieser Fragestellung leitet sich für die Zukunft weiterer Forschungsbedarf ab, insbesondere sind zur Beantwortung des Potentials für die individuelle Verlaufskontrolle Längsschnittstudien (Beobachtung der gleichen Individuen über einen längeren Zeitraum für die Erfassung individueller Veränderungen) notwendig.

7.1.2 Atemzug aufgelöste Analyse der exhalieren Aerosole

7.1.2.1 Einleitung

Wie in den Abschnitten 6.2.2.2 und 6.2.2.3 dargestellt, sind Lungenkrankheiten mit Ventilationsstörungen und strukturellen Veränderungen, vor allem in den peripheren Bereichen, verbunden. Brand et al. (1999) und Blanchard (1996 A und B) analysieren in Untersuchungen mit monodispersen Testaerosolen in Abhängigkeit der volumetrischen Lungentiefe einerseits den konvektiven Transport des Atemgases ($d_p = 0.8 \mu\text{m}$) und andererseits die Dimensionen der peripheren Atemwege über das verweilzeitabhängige Sedimentationsverhalten der Partikel ($d_p = 1 \mu\text{m}$). Mehrere Studien (z.B. Lehnigk et al., 2001) belegen, dass insbesondere für die Früherkennung eines Emphysems, das bereits im zu Beginn der COPD auftreten kann, die Aerosolmorphometrie konventionellen

Methoden der Lungenfunktionsprüfung überlegen ist. Aufgrund des hohen technischen Aufwands für die Aerosolerzeugung beschränkt sich der Einsatz dieser Verfahren jedoch nur auf wissenschaftliche Untersuchungen.

Hier könnte der Einsatz der endogen in der Lunge generierten Partikel als „interne Aerosolquelle“ eine sehr vielversprechende Alternative für eine routinemäßige Anwendung dieser Methode in der klinischen Praxis darstellen. Entscheidend für diesen neuartigen Ansatz ist die zeitlich hoch aufgelöste Analyse des Verlaufs der exhalierten Partikelkonzentration und des Größenspektrums über den Expirationsvorgang für die Abbildung/Betrachtung der verschiedenen Lungentiefen.

Für eine entsprechende atemzugaufgelöste Analyse der Partikeleigenschaften wurde daher im Vorfeld ein geeignetes standardisiertes Atemmuster festgelegt. Um einen auch für die gröbenselektive Erfassung der Zählereignisse mit genügender statistischer Sicherheit ausreichenden Partikelanzahlstrom zu realisieren, erfolgte im ersten Schritt aus der Ruheatmung heraus eine tiefe Ausatmung bei einer konstanten Atemflussrate von 25 l/min. Nach der darauf folgenden Inspiration für die Wiedereröffnung der kollabierten Atemwege wird ein langsames Exhalationsmanöver bei 10 l/min und einem Volumen $EV = 0.7$ VC für die Partikelanalyse durchgeführt (siehe Abb. 7.1).

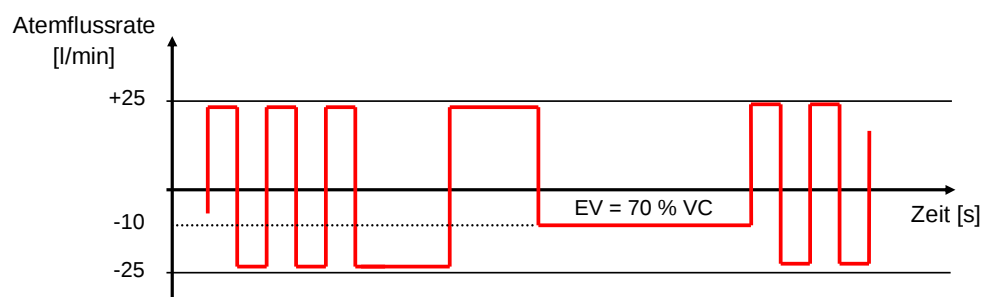


Abbildung 7.1: Atemmuster für die zeitlich hoch aufgelöste Analyse der exhalierten Partikelgrößenverteilung für die experimentellen Untersuchungen der Testpersonen.

7.1.2.2 Analyse des Aerosolkonzentrationsprofils

Aufgrund des potentiellen Anstiegs der Partikelanzahlemission mit zunehmender Atemtiefe wird das in der äußersten Peripherie generierte bzw. dorthin transportierte Aerosol als Aerosolbolus in dieser Lungentiefe betrachtet.

Strukturelle Veränderungen, die i. d. R. asymmetrisch sind, führen zunehmend zu einer inhomogenen Befüllung und Entleerung der Lunge und damit verbunden einer Verbreiterung des ursprünglich in der Lunge generierten diskreten Aerosolbolus. Neben der krankheitsbedingten Dispersion des Bolus steigt nahe liegender Weise die Verbreiterung des Bolus auch mit zunehmender Größe der Lunge, d.h. der Totalkapazität, moderat an. Demzufolge ist vor dem Vergleich und der Interpretation der Daten ein Normierungsschritt durchzuführen (Schulz et al., 2003; Brand et al., 1997; Blanchard, 1996 A; Brand et al., 1994).

In Anlehnung an die experimentellen und theoretischen Untersuchungen von Brand, Blanchard sowie Sturm et al. (2007) erfolgt die Auswertung der Messergebnisse über dem absoluten exhalierten Volumen EV , welches der volumetrischen Lungentiefe entspricht. Analysiert wird die Konzentration der ausgeatmeten Aerosolfraction mit einem Partikeldurchmesser unterhalb $0.5\ \mu\text{m}$, d.h. entsprechend einem Tröpfchendurchmesser $< 1\ \mu\text{m}$, für die die Redepositionsrate in der Lunge minimiert ist. Nachdem weiterhin, wie gezeigt, die Gesamt-Redepositionsrate der ursprünglich gebildeten Partikel in der Lunge gering ist, wird zusätzlich vereinfachend der Verlauf der Gesamtkonzentration als Kenngröße für den konvektiven Transport der Atemluft herangezogen. Analog den experimentellen Untersuchungen von Brand et al. (1999) und Blanchard (1996 A und B), sowie den theoretischen Betrachtungen von Sturm et al. (2007) wird eine Halbwertsbreite des Peaks als direktes Maß für den konvektiven Transport in der Lunge, d.h. die Homogenität der Ventilation, definiert und betrachtet. In Abbildung 7.2 ist der Verlauf der Gesamtkonzentration sowie der Feinfraktion $< 0.5\ \mu\text{m}$ und der Grobfraktion $> 0.5\ \mu\text{m}$ des Aerosols beispielhaft für einen gesunden Probanden und einen Patienten mit COPD dargestellt. Es ist erkennbar, dass analog den Untersuchungen mit den Testaerosolen eine Verbreiterung des Peaks, sowohl im Gesamt-Konzentrationsprofil als auch für den Verlauf der Fraktion $< 0.5\ \mu\text{m}$, für die endogen generierten exhalierten Aerosole auftritt, zusätzlich zeigt sich eine Verschiebung in Richtung geringerer Lungentiefen.

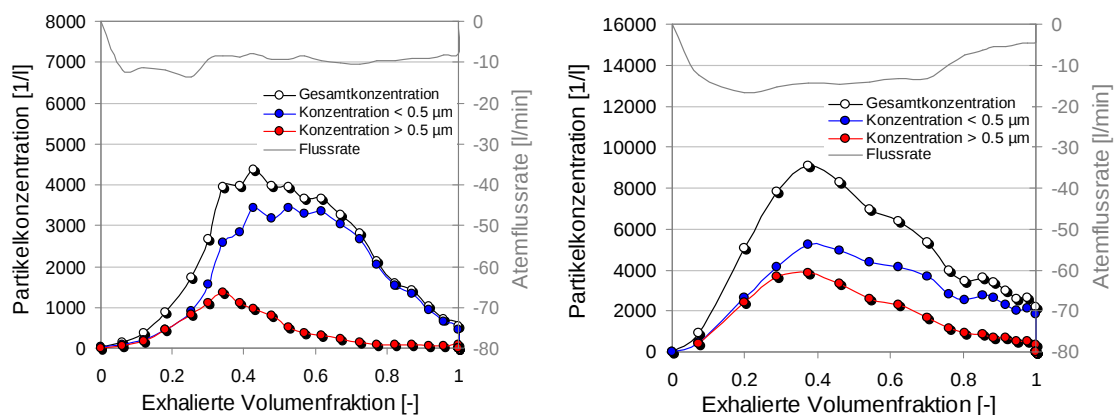


Abbildung 7.2: Verlauf der Gesamt-Konzentration der exhalierten Partikel, sowie der Fraktion oberhalb $0.5\ \mu\text{m}$ und unterhalb $0.5\ \mu\text{m}$ über einen individuellen Exhalationsvorgang bei einem hohen Atemzugvolumen von $3.5\ \text{l}$ für einen gesunden Nichtraucher (links) und einen COPD-Patienten (GOLD III) (rechts).

Die verstärkte Dispersion des Bolus ist Untersuchungen von Kohlhäufel et al. (1997) und Rosenthal (1995) zufolge auf eine vermehrte konvektive Vermischung des generierten Aerosolbolusvolumens mit der Residualluft der kranken Lunge sowie die ungleichmäßige Entleerung zurückzuführen, beispielsweise infolge asymmetrischer Strukturen aufgrund der veränderten Morphologie. Die Verschiebung des Peaks bzw. des Plateaus in Richtung geringerer exhalierter Volumina, d.h. kleinerer volumetrischer Lungentiefen, ist vermutlich auf die mit der COPD verbundene reduzierte Ventilation peripherer, tiefer Lungenstrukturen zurückzuführen (Young und Martin, 1966). Dies bedeutet, dass insbesondere zum Ende der Exhalation im Gegensatz zu der gesunden Lunge kaum periphere Strukturen mit partikelfreier Residualluft entleert werden.

Für die Betrachtung der Ergebnisse des gesamten Kollektivs wird ähnlich den Untersuchungen mittels inhalierter Testaerosole der Quotient des Halbwerts Volumens H als Maß für die Breite des Konzentrationspeaks, definiert als $(V_{100} - V_{50})/V_{100}$, normiert auf das gesamte exhalierete Volumen EV als Maß für die volumetrische Tiefe V_D , die im Atemmanöver erreicht wird, d.h. die sog. Breath Aerosol Dispersion (BAD), dargestellt, (Abb. 7.3) entsprechend

$$BAD = \frac{(V_{100} - V_{50})/V_{100}}{EV} = \frac{H}{V_D}. \quad (7.1)$$

Mit zunehmendem Schweregrad der Erkrankung ist ein Trend in Richtung höherer Werte zu erkennen, der jedoch keine zuverlässige Unterscheidung kranker und gesunder Personen erlaubt. Dies ist vermutlich über die in der Realität im Vergleich zur Inhalation der Testaerosole nicht diskrete, sondern über den gesamten Inhalationsvorgang auftretende Aerosolgeneration zurückzuführen, die zu komplexen und schwer zu beschreibenden Dispersionsphänomenen führt. Weiterhin resultieren krankhafte Veränderungen in einer deutlich veränderten Ventilation der Lunge, insbesondere der zeitlichen Abfolge der Be- und Entlüftung der einzelnen Lungenabschnitte (Young und Martin, 1967).

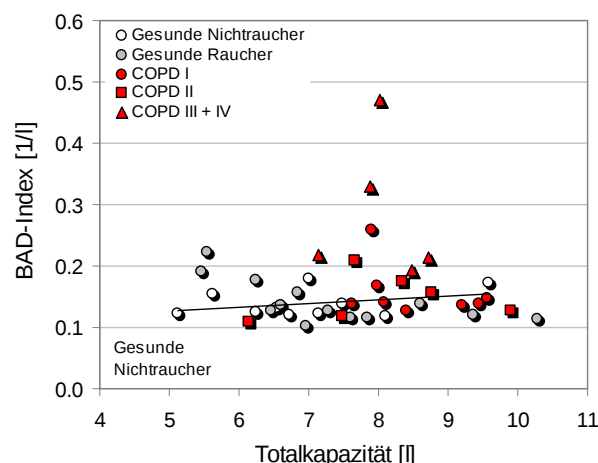


Abbildung 7.3: Bolusdispersion der exhalierten Aerosole über den individuellen Ausatemvorgang für alle untersuchten Testpersonen, normiert auf die Totalkapazität.

7.1.2.3 Analyse des Größenspektrums

Das breite Aufenthaltszeitspektrum in der Lunge legt vielmehr die Nutzung des verweilzeitabhängigen Sedimentationsverhaltens der Partikelfraktion oberhalb $0.5 \mu\text{m}$ für diagnostische Zwecke nahe. Entscheidend für die Verwendung der gravitationsbedingten Abscheidung exhalierter Partikel als neuartigen Ansatz ist, dass das in der Lunge generierte Tröpfchengrößenspektrum invariant, d.h. insbesondere von den genauen Entstehungsbedingungen und dem Gesundheitszustand der Lunge unabhängig ist, und überwiegend im submikronen Bereich liegt. Folglich ist das Problem der großen intra-individuellen Schwankungen des Anzahlemissionsniveaus dieser endogenen

Aerosolquelle sehr einfach umgebar, indem nicht der zeitliche Verlauf der für die sedimentative Abscheidung relevanten Konzentration c der Grobfraction herangezogen wird, sondern ein definiertes Konzentrations- oder Anzahlverhältnis zweier Fraktionen, die sog. *BAS* (= *B*reath *A*erosol *S*ize):

$$BAS = \frac{N(d_p \geq 0.5 \mu m, t)}{N_{ges}(t)} = \frac{c(d_p \geq 0.5 \mu m, t)}{c_{ges}(t)} \quad (7.2)$$

Die entsprechende Darstellung der in Abbildung 5.18 exemplarisch veranschaulichten Ergebnisse für den zeitlichen Verlauf der exhaliierten Partikelgrößenverteilung über den individuellen Expirationsvorgang findet sich in der Abbildung 7.4.

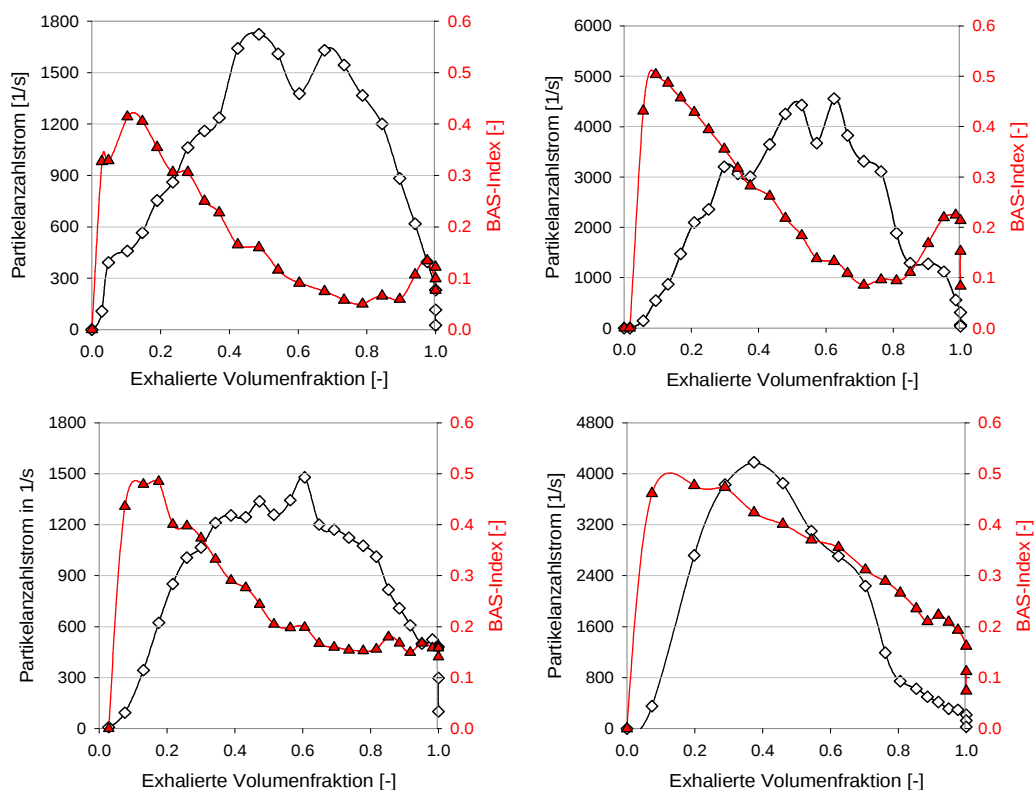


Abbildung 7.4: Zeitlich aufgelöster Verlauf des Partikelgrößenverhältnisses $N(> 0.5 \mu m)/N_{ges}$ (rote Kurve) und der exhaliierten Partikelkonzentration (schwarze Kurve) für einen gesunden Nichtraucher (links oben), einen gesunden Raucher (rechts oben), einen Patienten mit milder COPD (links unten) und einen Patienten mit schwerer COPD (rechts unten) für ein exhaliiertes Volumen von 0.7 VC.

Diese Übersicht verdeutlicht, dass sich im Gegensatz zur atemzuggemittelten Auswertung des Größenspektrums für die atemzug aufgelöste Analyse erhebliche spezifische Unterschiede zwischen den einzelnen Kollektiven in Abhängigkeit vom Gesundheitszustand ergeben. Für den exemplarisch abgebildeten Raucher und die COPD-Patienten zeigt sich mit steigendem Schweregrad der Erkrankung zum Ende des Exhalationsvorgangs eine zunehmend höhere Fraktion der Partikel $> 0.5 \mu m$. Für die Betrachtung der Ergebnisse des gesamten untersuchten Kollektivs wird für jeden Probanden vereinfachend das Verhältnis der Partikelanzahl oberhalb $0.5 \mu m$ zu der Gesamtanzahl der über den Ausatemvorgang emittierten Partikel gebildet (BAS_{Ex}):

$$BAS_{Ex} = \frac{N(d_p \geq 0.5 \mu m)}{N_{ges}} \quad (7.3)$$

Um die Abhängigkeit des Indexes von der Größe der Lunge, d.h. den höheren Aufenthaltszeiten infolge der größeren absoluten Atemzugvolumina zu berücksichtigen, erfolgt die Darstellung über der individuellen Vitalkapazität VC (Abb. 7.5). Diese stellt eine mittels spirometrischer Verfahren sehr leicht bestimmbare Kenngröße dar.

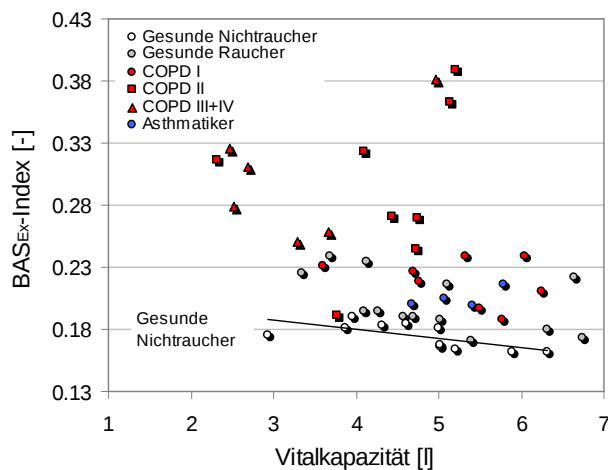


Abbildung 7.5: Verhältnis der Partikelanzahl $N(>0.5 \mu m)$ zur Gesamtanzahl N_{ges} , gemittelt über den gesamten Exhalationsvorgang für die gesunden Nichtraucher, gesunden Raucher, COPD-Patienten und Asthmatiker als Funktion der Vitalkapazität VC.

Diese Darstellung gibt einen deutlichen Hinweis darauf, dass sich die Kollektive der Gesunden und der Lungenkranken prinzipiell gut voneinander trennen lassen. Von besonderem Interesse ist die Gruppe der gemäß konventioneller Lungenfunktionsprüfung als gesund eingestuftten Raucher: ein Teil des Kollektivs weist einen Partikelgrößenindex BAS_{Ex} wie gesunde Nichtraucher auf, während der andere Teil Werte zeigt, wie sie für Probanden mit milder COPD vorliegen.

Unter der Annahme der Invarianz der generierten Partikelgrößenverteilung können diese beobachteten Unterschiede nur auf ein verändertes Redepositionsverhalten, d.h. zunehmend geringere sedimentative Verluste infolge größerer relevanter Atemwegsdimensionen, insbesondere in den peripheren Bereichen, zurückzuführen sein. Im Zusammenhang mit der COPD sind hier einerseits überblähte und somit vergrößerte Atemwegsstrukturen in der Lungenperipherie denkbar, zum anderen die Verschiebung und Reduktion der ventilierten Abschnitte in Richtung proximaler Strukturen infolge vermehrter Atemwegsverschlüsse in den äußeren Bereichen der Lunge ($VC/TLC \downarrow$, $FRC/TLC \uparrow$).

Für eine genauere Abschätzung zur Signifikanz und Spezifität dieser Methode sind in der folgenden Abbildung die Ergebnisse der verschiedenen Kollektive nach einer entsprechenden Normierung der Werte bezüglich des Lungenvolumens dargestellt (Abb. 7.6). (Anmerkung: Für die Normierung wird für alle Probanden die über die lineare Regression für die Gruppe der gesunden Nichtraucher ermittelte Beziehung zugrunde

gelegt, wobei als Referenzvolumen eine Vitalkapazität $VC = 5$ l festgelegt wurde. So wird beispielsweise für eine Person mit einer Vitalkapazität $VC = 6$ l zu dem Partikelgrößenverhältnis noch 1×0.0079 addiert, um den durch die größere Lunge geringeren BAS_{Ex} -Wert entsprechend auszugleichen).

Es ist erkennbar, dass sich die Population der gesunden Nichtraucher von den COPD-Patienten, insbesondere auch bereits bei einem niedrigen Schweregrad der Erkrankung signifikant unterscheidet, während die Gruppe der gesunden Raucher mit einer deutlich höheren Standardabweichung genau zwischen diesen beiden Gruppen liegt.

Dieses Ergebnis wirft die Frage auf, inwieweit sich die Partikelgrößenanalyse im Exhalat für die Früherkennung der Gruppe gesunder Raucher eignen könnte, die eine Neigung zur Entwicklung einer COPD haben.

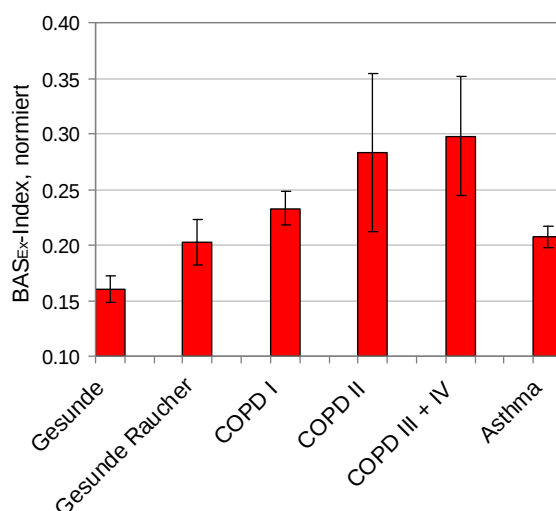


Abbildung 7.6: Darstellung des Mittelwertes des normierten BAS_{Ex} -Index für die einzelnen Kollektive mit zugehöriger Standardabweichung (vertikale Fehlerbalken).

Um dieser Fragestellung nachzugehen, ist ein Blick auf die derzeit routinemäßig mit geringem Aufwand eingesetzten, nicht-invasiven Verfahren der Lungenfunktionsprüfung, der Spirometrie und der Bodyplethysmographie, notwendig.

Diese Methoden erfassen jedoch Veränderungen in der Lungenperipherie, die i.d.R. den Ausgangspunkt von Krankheiten darstellt, nur sehr unzureichend, da sie primär auf der Messung des Atemwegswiderstands beruhen (Shaw et al., 2002; Thurlbeck, 1973; Hogg, 1968). Dieser ist in den oberen Atemwegen aufgrund der geringen Gesamt-Querschnittsfläche am höchsten, während die zahlreichen peripheren Atemwege aufgrund ihrer um ein Vielfaches höheren Gesamt-Querschnittsfläche kaum zum Gesamt-Widerstand beitragen und somit beispielsweise im Frühstadium der COPD nicht zu einer Flusslimitation führen (Petty et al., 1987).

Nachdem die sedimentativen Ablagerungsprozesse der endogen generierten Aerosole nahezu ausschließlich in den feinen Strukturen der Acini stattfinden, d.h. dem Ausgangspunkt vieler Lungenkrankheiten, könnte die Partikelgrößenanalyse im Exhalat in besonderem Maße für die Früherkennung von Lungenkrankheiten geeignet sein.

7.1.3 Theoretische Betrachtungen zum atemzug aufgelösten Größenspektrum über das morphometrische Lungenmodell

Für die Analyse der für die Gesunden und Lungenkranken beobachteten Unterschiede im emittierten Größenspektrum und der daraus abgeleiteten Abschätzungen und Hypothesen zu den relevanten ventilations- und strukturbedingten Änderungen in der Lunge, wird das im vorhergehenden Kapitel entwickelte BA-Modell zugrunde gelegt.

Basis für die Abbildung der Vorgänge der Aerosolentstehung und des -transports innerhalb des individuellen Atemzugs (SBA = Single Breath Anal^ysis) bildet die Annahme der sukzessiven Befüllung und Entleerung der einzelnen Lungenabschnitte bzw. -tiefen. Daraus resultiert die Entstehung von Tröpfchen über den gesamten zeitlichen Verlauf der Inspiration und somit über das gesamte Inhalationsvolumen im Gegensatz zu den diskreten Werten für den Punkt der Aerosolentstehung bei der atemzuggemittelten Analyse. In Abhängigkeit des Zeitpunkts der Bildung penetrieren die Tröpfchen unterschiedlich weit in die Lunge, d.h. die verschiedenen Entstehungszeitpunkte spiegeln die verschiedenen Lungentiefen wieder. Folglich erscheinen die Partikel aufgrund des First-in-last-out-Prinzips über den gesamten Exhalationsvorgang mit der der jeweiligen Lungentiefe entsprechenden, veränderlichen Partikelgrößenverteilung.

Für die morphometrische Charakterisierung der unterschiedlichen Lungentiefen wird das Verhältnis des von den Partikeln durchlaufenen Volumens zu der zugehörigen Oberfläche ein Atemwegsdurchmesser berechnet. Dieser Atemwegsdurchmesser wird in Anlehnung an die mit inhalierten Testaerosolen durchgeführten Studien (z.B. Lehnigk et al., 2001) als relevanter Atemwegsdurchmesser D_{rel} definiert. Die Alveolen werden hierbei ebenfalls als Zylinder betrachtet, wobei für die Berechnung der Oberfläche der Boden nicht berücksichtigt wird und von den Seitenwänden nur der tatsächlich durchlaufene Anteil eingeht:

$$\frac{V_{ges}}{S_{ges}} = \frac{\pi / 4 \sum_{i=0}^n N_i D_i^2 L_i}{\pi \sum_{i=0}^n N_i D_i L_i} = \frac{D_{rel}}{4}. \quad (7.4)$$

Hierbei stellen N_i , D_i und L_i die Anzahl, den Durchmesser und die Länge der Zylinder in der entsprechenden Generation i der Lunge dar. Nachdem der Einfluss der zentralen Strukturen oberhalb der Acini auf den Wert von D_{rel} vernachlässigbar ist und diffusive Verluste nur in geringem Umfang und vor allem partikelgrößenunabhängig auftreten, steht der ermittelte relevante Atemwegsdurchmesser in unmittelbarem Zusammenhang mit der sedimentativen Ablagerung in den peripheren Strukturen. Auf Basis dieser Vorstellungen ist anhand des zeitlichen Verlaufs des emittierten Partikelgrößenspektrums der Rückschluss auf die in der Lungenperipherie vorliegenden Dimensionen der belüfteten Strukturen möglich.

Für eine Abschätzung relevanter Einflüsse auf die zeitlich aufgelöste, exhalierete Partikelgrößenverteilung werden im Folgenden Parameterstudien unter Berücksichtigung bekannter krankheitsbedingter Veränderungen der Lungenstruktur und des Ventilationszustands der Lunge durchgeführt (= Single Breath Aerosol Model).

Ergänzende Randbedingungen, die im Speziellen für das SBA-Modell gültig sind:

Variablen allgemein:

- Partikelgröße
- Zeitpunkt der Entstehung während der Inspiration (10 festgelegte Zeitpunkte über den Exhalationsvorgang)

Ventilation:

- Atemzugvolumen = konst. = 70 % VC
- Inhalationsflussrate = konst. = 30 l/min, Exhalationsflussrate = konst. = 10 l/min

Aerosolentstehung:

- Entstehungsort = konst. = Generation 15

Ergebnis:

- normiertes Größenspektrum bzw. *BAS* als Funktion des Volumens EV / der Zeit t_{ex} (diskrete Zeitpunkte) in Abhängigkeit des Zeitpunktes der Aerosolentstehung
- relevanter Atemwegsdurchmesser D_{rel} als Funktion des Volumens EV / der Zeit t_{ex}

Alle übrigen Annahmen, z.B. für die Abbildung krankhafter Lungenveränderungen, bleiben unverändert.

Für die grundlegende Überprüfung der in dem SBA-Modell getroffenen Annahmen wird im ersten Schritt eine Parameterstudie analog den exemplarisch für einen gesunden Probanden experimentell ermittelten Werten durchgeführt. Hierbei wird das zeitlich aufgelöste Spektrum der exhalierten Aerosole in Abhängigkeit des Ventilationsquotienten bestimmt und den entsprechenden Messwerten gegenüber gestellt, zusätzlich wird der der jeweiligen Lungentiefe zugehörige relevante Atemwegsdurchmesser dargestellt (Abb. 7.7).

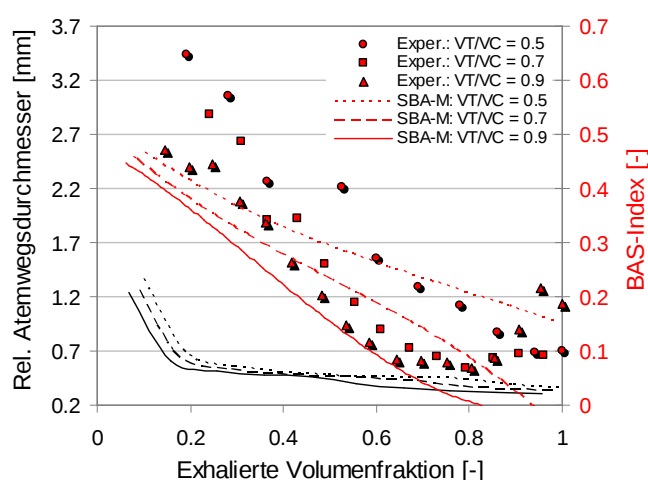


Abbildung 7.7: Vergleich der mittels SBA-Modell theoretisch ermittelten Werte für den Partikelgrößenindex *BAS* mit den experimentell ermittelten Werten (rote Symbole) in Abhängigkeit von dem Ventilationsquotienten für einen gesunden Nichtraucher (Totalkapazität 6.4 l) (rote Kurve) mit Darstellung des zugehörigen theoretischen relevanten Atemwegsdurchmessers über der exhalierten Volumenfraktion (schwarze Kurven).

Mit Abnahme des belüfteten Volumens steigt sowohl für die theoretische als auch experimentelle Betrachtung das Partikelgrößenverhältnis insbesondere zum Ende des Expirationsvorgangs deutlich an, entsprechend einem höheren relevanten Atemwegsdurchmesser. Die prinzipiell gute Übereinstimmung der theoretischen und klinischen Ergebnisse lässt darauf schließen, dass die für das SBA-Modell getroffene Annahme der kontinuierlichen Aerosolbildung über den gesamten Inhalationsvorgang sowie die zugrunde gelegten morphologischen und ventilatorischen Verhältnisse die Bedingungen in der realen Lunge gut abbilden.

Dementsprechend werden im Folgenden theoretische Parameterstudien mit dem SBA-Modell zu dem Einfluss der bekannten, im Zusammenhang mit COPD auftretenden, krankhaften Veränderungen der Struktur und Belüftung auf die emittierten Größenspektren durchgeführt (siehe auch Abb. 7.8). Ziel ist, über Annahmen zu den beobachteten Unterschieden zugrunde liegenden Änderungen, insbesondere auch der messtechnisch schwer erfassbaren, eine Abschätzung zum diagnostischen Potential der Partikelgrößenanalyse zu gewinnen.

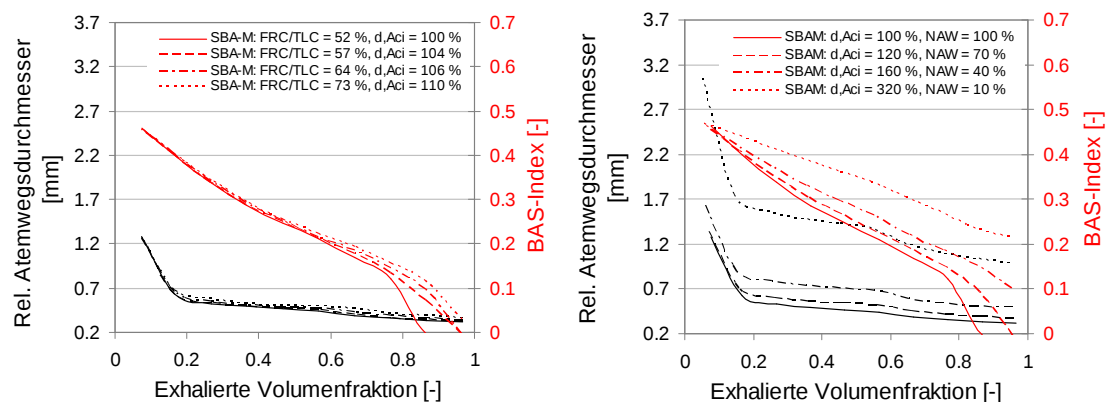


Abbildung 7.8: Theoretisch mittels BAS-Modell ermittelte Werte für den Partikelgrößenindex BAS eines gesunden Nichtrauchers ($TLC = 6.4\text{ l}$, $FRC/TLC = 52\%$) (durchgehende rote Kurve) unter Variation der Atemlage (links) und des Atemwegsdurchmessers sowie entsprechend der Anzahl der Atemwege in den Acini (rechts), mit Darstellung der zugehörigen theoretischen relevanten Atemwegsdurchmesser (schwarze Kurven).

Die Ergebnisse der Parameterstudien lassen sich wie folgt zusammenfassen:

- die Abnahme des ventilierten Volumen(anteils), wie sie mit zunehmendem Schweregrad der COPD auftritt ($VC/TLC \downarrow$), resultiert in einer deutlichen Zunahme des zeitlich aufgelösten Partikelgrößenverhältnisses (dies geht indirekt aus den Ergebnissen der Abb. 7.7 hervor)
- die Erhöhung der Atemlage entsprechend den in Abhängigkeit des Schweregrades bei der Lungenfunktionsprüfung ermittelten Werten FRC/TLC führt bei gleich bleibendem Atemzugvolumen am Ende des Expirationsvorgangs ($EV(t) > 80\% EV$) zu einer vergleichsweise geringeren Zunahme des BAS-Wertes
- die Vergrößerung der peripheren Atemwegsdimensionen, verbunden mit der Abnahme der Anzahl der Atemwegsstrukturen, ist etwa ab einer durchschnittlichen Erhöhung der Dimensionen im Acinus von etwa 10 % relevant (siehe Abb. 7.8)

- der Grad der Atemwegsobstruktion (d.h. eine Abnahme des Durchmessers im Bereich der terminalen Bronchiolen (Generation 14 -16) hat keinen Einfluss auf die emittierten Partikelgrößenspektren: die mit den geringeren Dimensionen verbundenen höheren Abscheideeffizienzen werden durch die entsprechend geringere Aufenthaltszeit ausgeglichen
- der Ort der Aerosolentstehung hat einen vernachlässigbaren Einfluss

Zusammengefasst legen die Parameterstudien zum Einfluss krankhafter Veränderungen auf den zeitlichen Verlauf des Größenspektrums während der Exhalation nahe, dass die beobachteten Unterschiede einerseits auf eine Reduktion des ventilerten Volumen(anteils) und andererseits - in einem jeodch vergleichsweise geringen Umfang - auf strukturelle Veränderungen in der Lunge zurückgehen, wie sie häufig bereits auch im frühen Stadium der COPD zu beobachten sind.

Die Ergebnisse einer komplexen theoretischen Untersuchung mittels des SBA-Modells verdeutlichen nochmals die Befunde der Parameterstudien: für einen Probanden mit milder COPD sind der atemzug aufgelöste Verlauf des Partikelgrößenindex, zum einen unter ausschließlicher Berücksichtigung der Veränderungen des Ventilationszustands und zum anderen unter Berücksichtigung sowohl der ventilatorischen als auch der zu erwartenden strukturellen Unterschiede, den Werten einer gesunden Vergleichsperson gegenüber gestellt (Abb. 7.9).

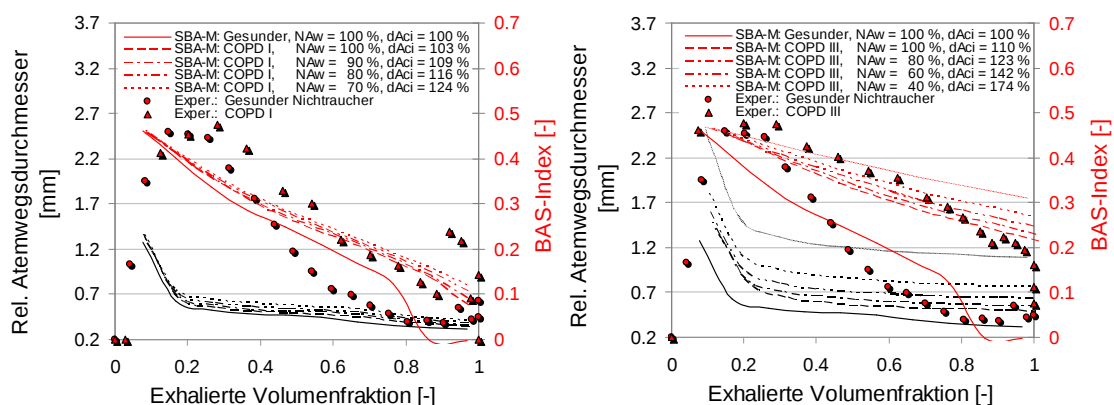


Abbildung 7.9: Theoretisch mittels SBA-Modell ermittelte Werte für den Partikelgrößenindex *BAS* eines gesunden Nichtrauchers ($TLC = 6.4$ l) (rote Kurve) unter Variation der Atemwegsdurchmesser in den Acini und der Anzahl belüfteter Atemwegsstrukturen entsprechend unterschiedlicher Schweregrade der COPD mit Darstellung des zugehörigen theoretischen relevanten Atemwegsdurchmessers (schwarze Kurven). Die Symbole zeigen beispielhaft entsprechende experimentell ermittelte Werte für einen gesunden Nichtraucher (rote Kreise, $TLC = 6.2$ l) sowie links einen Patienten mit COPD I ($TLC = 8.0$ l) bzw. rechts einen Patienten mit COPD III ($TLC = 8.5$ l) mit vergleichbaren Werten für die Totalkapazität.

Der Vergleich der über das Modell theoretisch berechneten Werte für das Partikelgrößenverhältnis *BAS* mit experimentell für gesunde Probanden bzw. COPD-Patienten mit einer entsprechenden Totalkapazität ermittelten Kenngrößen zeigt eine sehr gute Übereinstimmung. Es ist daher anzunehmen, dass das Modell trotz der festgelegten Vereinfachungen ein hinreichend gutes Abbild auch der in der realen kranken Lunge vorliegenden Verhältnisse gibt.

Somit existiert mit dem SBA-Modell erstmalig ein komplexes Modell, dass die Nutzung des verweilzeitabhängigen Sedimentationsverhaltens in den Lungenstrukturen für eine partikelbasierte Diagnostik unter detaillierter Berücksichtigung der komplexen Lungenmorphologie und –morphometrie, sowie des Ventilationszustands und der respirationsphysiologischen Bedingungen, beschreibt. Dies ermöglicht nach dem derzeitigen Kenntnisstand Aussagen über den Einfluss der verschiedenen Parameter auf das Redepositionsverhalten bzw. Rückschlüsse von den experimentell ermittelten Werten auf die in der Lunge vorliegenden Bedingungen.

Für die Interpretation der physikalischen Messdaten ist folglich der über das Modell bestimmte relevante Atemwegsdurchmesser gut nutzbar, da diese Kenngröße sowohl Veränderungen der Ventilation als auch der Struktur berücksichtigt. Der relevante Atemwegsdurchmesser liegt für die peripheren Bereiche für gesunde Personen bei 0.3 – 0.5 mm, während er für Probanden in Abhängigkeit des Schweregrades der COPD nach dem SBA-Modell bei bis zu 1.1 mm liegt (Abb. 7.9).

Werden diese Werte mit über das Verweilzeitverhalten inhalierter Testaerosole und über hoch auflösende bildgebende Verfahren ermittelten Dimensionen der Atemwegsstrukturen gegenüber gestellt (Abb. 7.10), ist eine sehr gute Übereinstimmung, insbesondere für die größeren Lungentiefen, zu erkennen (Lehnigk et al., 2007; Brand et al., 2003; Lehnigk et al., 2001; Kohlhäufel et al., 1999; Zeman und Bennett, 1995; Beinert et al., 1995). Diese Studien belegen, dass insbesondere für die Früherkennung eines Emphysems, das bereits im Frühstadium der COPD auftritt, die sog. Aerosolmorphometrie konventionellen Methoden der Lungenfunktionsprüfung überlegen ist. Ebenso findet sich auch bei der Lungenfibrose, einer Erkrankung die mit einer vermehrten Bildung von Bindegewebe insbesondere in der Lungenperipherie verbunden ist, eine Erhöhung der Atemwegsdimensionen (Brand et al., 1999). Für das Asthma bronchiale ergeben sich hier jedoch widersprüchliche Ergebnisse: so finden Siekmeyer et al. (1989) nach pharmakologisch induzierter Bronchokonstriktion und Beinert et al. (1991) Veränderungen in den zentralen Atemwegsdimensionen, Lehnigk et al. (2001) können keine Veränderungen gegenüber gesunden Vergleichspersonen feststellen. Hier fehlt jedoch die Beschreibung des Kollektivs und der Rahmenbedingungen der Untersuchung, so dass dieses Ergebnis nicht einzuordnen ist.

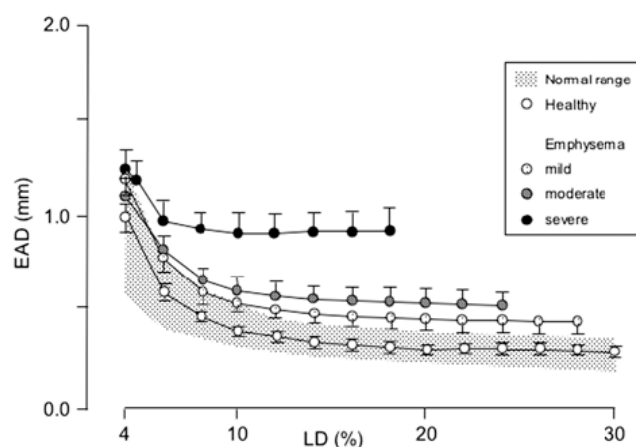


Abbildung 7.10: Effektiver Atemwegsdurchmesser (EAD) für gesunde Probanden und Patienten mit unterschiedlichem Schweregrad eines Emphysems in Abhängigkeit von der Lungentiefe (aus Lehnigk et al., 2007, S. 78).

Aufgrund des hohen Aufwands für die Aerosolerzeugung und -detektion beschränkt sich der Einsatz dieses Verfahrens jedoch auf wissenschaftliche Untersuchungen.

Neben den bereits sehr aussichtsreichen experimentellen Untersuchungen legen auch die theoretischen Studien anhand des SBA-Modells ein viel versprechendes Potential der zeitaufgelösten Partikelgrößenanalyse im Exhalat für die Erkennung von, insbesondere auch frühen, krankhaften Lungenveränderungen nahe. Die Ergebnisse von Untersuchungen zum verweilzeitabhängigen Sedimentationsverhalten inhalierter Testaerosole in Abhängigkeit des Gesundheitszustands der Lunge unterstützen, insbesondere durch den Vergleich der Partikeldaten mit den Ergebnissen bildgebender Methoden, diese Hypothese deutlich. Entscheidend hierfür ist, dass die Partikelgrößenanalyse der endogen generierten Aerosole gegenüber den konventionellen Methoden der Lungenfunktionsprüfung nach unserem derzeitigen Kenntnisstand in der Lage ist, gleichzeitig sowohl Änderungen des Belüftungszustands der Lunge als auch strukturelle Veränderungen sehr sensitiv zu erfassen. Bei der Bodyplethysmographie bzw. der Spirometrie sind strukturelle Veränderungen aufgrund der indirekten Erfassung über die Flusslimitation (bzw. bei der Bodyplethysmographie auch die direkte Messung des Strömungswiderstandes) erst in einem fortgeschrittenen Zustand erkennbar.

Neben der potentiellen diagnostischen Aussagekraft eines solchen Verfahrens, spielen auch die Praktikabilität der Methode sowie der Umfang und die Umsetzbarkeit der durchzuführenden Atemmanöver für den Patienten eine entscheidende Rolle. Im vorliegenden Fall sind die Sensitivität des ermittelten Partikelgrößenspektrums gegenüber den Atemflussraten, dem Atemzugvolumen und der Tiefe der Exhalation bei der Induzierung des Atemwegskollapses von hoher Relevanz.

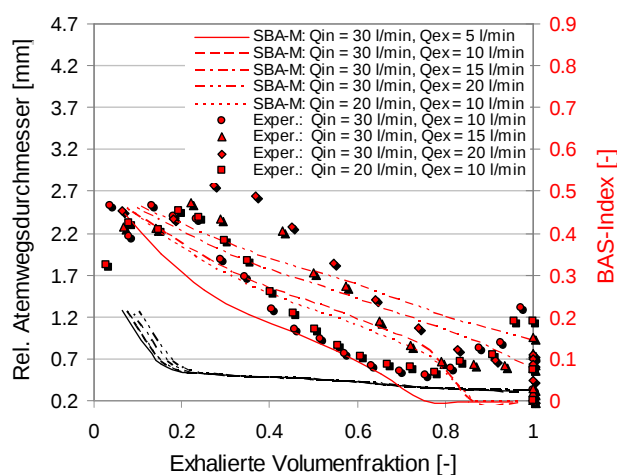


Abbildung 7.11: Theoretisch mittels SBA-Modell ermittelte Werte für den Partikelgrößenindex *BAS* eines gesunden Nichtrauchers (Totalkapazität 6.4 l) (rote Kurve) unter Variation der Atemflussraten für Inhalation und Exhalation mit Darstellung der zugehörigen relevanten Atemwegsdurchmesser (schwarze Kurven). Die Symbole zeigen beispielhaft zugehörige experimentell ermittelte Werte für einen gesunden Nichtraucher mit vergleichbarem Wert für die Totalkapazität.

Sowohl entsprechende experimentelle als auch theoretischen Untersuchungen (Abb. 7.11) zu der Abhängigkeit der Atemflussraten zeigen, wie zu erwarten, dass die Exhalationsgeschwindigkeit einen erheblichen Einfluss auf den zeitlich hoch aufgelösten Verlauf der Partikelgröße hat. Daher ist eine exakte Einhaltung einer Atemflussrate von

10 l/min entscheidend: eine höhere Geschwindigkeit resultiert in einer erheblichen Zunahme des Partikelgrößenverhältnisses, so dass die relativen Unterschiede zwischen gesunden und kranken Personen und somit die Signifikanz reduziert werden, eine geringere Flussrate ist physiologisch kaum umsetzbar. Die Inhalationsflussrate übt hingegen keinen signifikanten Einfluss auf das Messergebnis aus.

Nachdem aus den theoretischen Untersuchungen folgt, dass der Ort der Aerosolentstehung, d.h. der Ort des Atemwegsverschlusses einen vernachlässigbar geringen Einfluss auf die Ergebnisse hat, ist anzunehmen, dass die Tiefe der Exhalation nicht von Bedeutung ist. Wichtig ist jedoch, dass für die Erfassung des zeitlich hoch aufgelösten Verlaufs der Partikelgröße in den einzelnen Größenklassen mit ausreichender statistischer Sicherheit ein genügend hoher Partikelstrom generiert wird.

Unter der Annahme einer vom Atemzugvolumen unabhängigen sukzessiven Befüllung und Entleerung der Lunge über die einzelnen Generationen hängt das emittierte Größenspektrum für eine bestimmte, konstante Größe der Lunge, d.h. Totalkapazität, nur noch vom exhaliierten Absolutvolumen ab. Dies entspricht einer definierten Lungentiefe und somit einem definierten relevanten Atemwegsdurchmesser, der das Redepositionsverhalten des Aerosols und damit das Partikelgrößenverhältnis *BAS* eindeutig festlegt. Diese Zusammenhänge sind in der Abbildung 7.12 für zwei unterschiedliche Totalkapazitäten der Lunge von 6.4 l und 9.0 l dargestellt. Die Skalierung der Dimensionen der Lungenstruktur erfolgt über die von Weibel (1963) ermittelten Zusammenhänge. Es ist ersichtlich, dass die Variation des Atemzugvolumens bei gleich bleibender Totalkapazität nahezu keinen Einfluss auf das exhaliierte Größenspektrum hat, lediglich am Ende des Exhalationsvorgangs sind geringfügige Unterschiede zu beobachten.

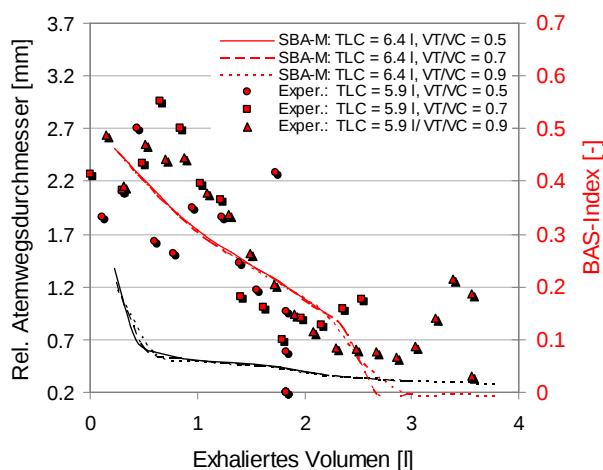


Abbildung 7.12: Theoretisch mittels SBA-Modell (rote Kurven) und beispielhaft experimentell ermittelte Werte (rote Symbole) für den Partikelgrößenindex *BAS* für einen gesunden Nichtraucher bei einer Totalkapazität der Lunge von 6.4 l im SBA-Modell bzw. 5.9 l im Experiment als Funktion des Ventilationsquotienten bzw. des absoluten Volumens. Die schwarzen Kurven zeigen die zugehörigen theoretisch ermittelten Werte für den relevanten Atemwegsdurchmesser.

Somit ist anzunehmen, dass eine vom vorliegenden Atemzugvolumen unabhängige Bewertung der experimentell ermittelten Werte des Partikelgrößenverhältnisses als Funktion des absoluten ausgeatmeten Volumens möglich ist, so dass die Durchführbarkeit der Manöver für den Probanden erheblich vereinfacht ist.

Nachdem das Verhältnis der Vitalkapazität VC zur Totalkapazität TLC für den gesunden Probanden im Rahmen enger Varianzen bei etwa 0.69 liegt, kann über die messtechnisch mittels Spirometrie sehr einfach erfassbare Vitalkapazität dem individuellen Probanden die relevante Partikelgrößenanalysekurve als Funktion der TLC zugeordnet werden. Befinden sich die gemessenen Werte oberhalb der Referenzkurve, so ist von krankhaften Veränderungen der Lunge auszugehen (Abb. 7.13).

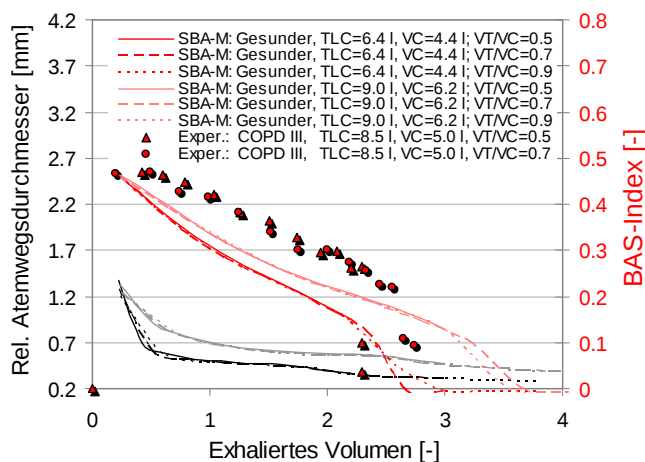


Abbildung 7.13: Theoretisch mittels SBA-Modell für den Partikelgrößenindex BAS bei einer TLC von 6.4 l (rote Kurven) und 9.0 l (hellrote Kurven) ermittelte Werte für einen gesunden Nichtraucher. Die roten Symbole zeigen beispielhaft die experimentellen Ergebnisse für einen Probanden mit COPD III bei einer TLC von 8.5 l und einer VC von 5.0 l als Funktion des Ventilationsquotienten bzw. des absoluten Volumens. Die schwarzen Kurven stellen die zugehörigen theoretisch ermittelten Werte für den relevanten Atemwegsdurchmesser dar.

Wie anhand der theoretischen Betrachtungen zu erwarten, liegen für den exemplarisch betrachteten COPD-Patienten (Stadium III) die experimentell ermittelten Werte für den BAS -Index oberhalb der rechnerisch bestimmten Werte.

Für eine Abschätzung, ob die Abweichungen primär auf eine Reduktion des ventilierten Volumens zurückgehen oder ob zusätzlich strukturelle Veränderungen der Lunge vorliegen, könnten die Messergebnisse im nächsten Schritt der Kurve der mittels Bodyplethysmographie ermittelten tatsächlich vorliegenden TLC gegenüber gestellt werden. Liegt nur eine Abnahme des belüfteten Volumenanteils der Lunge vor ($VC/TLC \downarrow$, $FRC/TLC \uparrow$), so ist zu erwarten, dass sich die Werte im Bereich der Referenzkurve bewegen. Liegen sie höher, so ist anzunehmen, dass zusätzlich strukturelle Veränderungen der Atemwege, insbesondere eine Vergrößerung der peripheren Atemwege, vorliegen. Somit erlaubt der Vergleich der experimentell für den Partikelgrößenindex bestimmten Werte mit den zugehörigen ermittelten Referenzwerten neben der Aussage zu dem Vorliegen einer krankhaften Veränderung vermutlich auch eine Abschätzung zu der Art der bestehenden Störung (Ventilation, Lungenstruktur).

Des Weiteren ermöglichen insbesondere die Untersuchungen über das SBA-Modell richtungsweisende Aussagen zur Sensitivität des emittierten Partikelgrößenspektrums gegenüber probandenabhängigen Varianzen der respirationsphysiologischen Parameter bei der Durchführung des relevanten Atemmanövers und somit der praktischen Umsetzbarkeit des Verfahrens. Für eine endgültige Abschätzung des Potentials der Methode und insbesondere der Sensitivität der einzelnen Parameter sind jedoch zukünftig noch sehr umfangreiche klinische Studien notwendig.

7.2 Sammlung exhalierter Aerosole für nachfolgende biochemische Analytik

Für detaillierte Aussagen bezüglich des Potentials und der Einsatzmöglichkeiten der biochemischen Analyse der endogen generierten exhalierten Aerosole ist eine Vielzahl von physiologischen und verfahrenstechnischen Randbedingungen zu beachten. So sind neben der Standardisierung der Analyseergebnisse auf den Massenstrom, der Anwendung eines geeigneten Atemmusters und der Kenntnis der partikelgrößen-, volumenstrom- und ortsabhängigen Abscheidecharakteristik des Sammelverfahrens konkrete Informationen über die aus der Lunge emittierten Aerosolmassenströme und damit verbunden Rückschlüsse auf die Eignung der verschiedenen Analysenverfahren bezüglich der jeweiligen Detektionsgrenzen essentiell. Diese Rahmenbedingungen wurden in der Vergangenheit bei dem Einsatz der Atemkondensatsammlung und der nachfolgenden Durchführung biochemischer Analysen häufig vernachlässigt.

Grundsätzlich ist es an dieser Stelle wichtig zu beachten, dass von den Konzentrationen der Substanzen aus den biochemischen Analyseergebnissen keine Rückschlüsse auf die Konzentrationen in der Lungenflüssigkeit gezogen werden können: die ursprüngliche Partikelgröße kann aufgrund der Messung in nicht wasserdampfgesättigter Umgebung, verbunden mit einer Schrumpfung der in gesättigter Atmosphäre gebildeten Tröpfchen, nicht exakt bestimmt werden. Analog sind für die Atemkondensatsammlung keine genauen Verdünnungsfaktoren bestimmbar. Um dennoch eine Abschätzung der absoluten emittierten Aerosolmassenströme aus der Lunge zu ermöglichen, wird der entsprechend den Betrachtungen in der Einleitung von Kapitel 6 zu erwartende volumenäquivalente Durchmesser von 800 nm zugrunde gelegt.

Für einen Ventilationsquotienten $V_T/VC = 0.7$ ergeben sich entsprechend der in den Untersuchungen ermittelten Konzentrationen im Bereich zwischen 10.000 und 400.000 und einer Korrektur des Durchmessers der Tröpfchen um einen Faktor 2 (d.h. Annahme eines volumenäquivalenten Durchmessers von $0.8 \mu\text{m}$) über ein 10-minütiges Sammelintervall ein emittiertes Volumen zwischen 2.7 und 107 pl. Nachdem sich die Lungenflüssigkeit im Wesentlichen aus Wasser und Proteinen bzw. Peptiden zusammensetzt, kann näherungsweise eine Dichte von 1 g/cm^3 angenommen werden, so dass sich der emittierte Massenstrom im Bereich zwischen 2.7 ng und 107 ng bewegt.

Aus der Literatur ist bekannt, dass die Konzentrationen diagnostischer Marker in der Lungenflüssigkeit extrem gering sind. So ist beispielsweise für das Interleukin 8 (IL-8), das einen inflammatorischen Marker mit einer vergleichsweise hohen Konzentration darstellt, etwa ein Wert zwischen 1 und 100 ng/ml zu erwarten (eigene Daten). Die Nachweisgrenzen immunologischer Detektionsverfahren, die derzeit eines der empfindlichsten Verfahren für den Nachweis entsprechender Substanzen darstellen, liegen zwischen 0.1 und 2 pg/ml bei einem notwendigen Probenvolumen von 25 μg (MSD, Inflammation Assays). Wird die geringste Partikelemissionsrate für die sichere Nachweisbarkeit bei allen Versuchspersonen zugrunde gelegt, so ergibt sich hieraus je nach vorliegender Konzentration eine emittierte Masse IL8 zwischen $2.7 \cdot 10^{-4}$ und $2.7 \cdot 10^{-6}$ pg. Das Kondensatvolumen von etwa 2 ml kann über eine Gefriertrocknung um ca. einen Faktor von 20 aufkonzentriert werden, so dass letztlich Konzentrationen im Bereich von $2.7 \cdot 10^{-3}$ und $2.7 \cdot 10^{-5}$ pg/ml vorliegen.

Somit bewegt sich die Konzentration der zu analysierenden Substanzen trotz einer positiven Abschätzung hinsichtlich des exhaliierten Partikelanzahlstroms, d.h. der von den Versuchspersonen realisierbaren Atemtiefe, der Tröpfchengröße und des Detektionslimits, um einen Faktor zwischen 10^2 und 10^4 unterhalb des Detektionslimits für IL-8.

Die theoretischen Betrachtungen unter Berücksichtigung der Aerosolmassengenerierung in der menschlichen Lunge zeigen eindeutig, dass die Atemkondensatsammlung, unabhängig von der genauen Abscheidecharakteristik der Einheit, bei vielen Fragestellungen prinzipiell ungeeignet für nachfolgende biochemische Untersuchungen basierend auf der Konzentrationsbestimmung nicht-volatiler Komponenten in der Ausatemluft ist (z.B. Untersuchung des inflammatorischen Zustands der Lunge). Die Ursache hierfür liegt, neben der volumenstrom- und partikelgrößenabhängigen Abscheidecharakteristik der Kühlfalle, in der verfahrensbedingt hohen Verdünnung der zu analysierenden Substanzen in der Größenordnung von rund $4 \cdot 10^8$.

Für die Realisierung einer ausreichenden Nachweisintensität und damit verbunden reproduzierbarer und vergleichbarer Konzentrationsergebnisse biochemischer Analysen ist daher, wie bereits von der Forschergruppe um Almstrand von der Universität Göteborg festgestellt und seit mehreren Jahren umfassend publiziert (Almstrand et al., 2012; Larsson et al., 2012; Holmgren et al., 2010), eine unverdünnte Sammlung der exhaliierten Aerosole ohne Auskondensation des gesamten Wasserdampfes essentiell.

An dieser Stelle sei seitens der Autorin der vorliegenden Arbeit darauf hingewiesen, dass sich die Aussagen auf Messungen von Substanzen beziehen, bei denen das absolute Konzentrationsniveau entscheidend für Schlussfolgerungen ist. Für andere Substanzen, wie beispielsweise bestimmte DNA-basierte Tumormarker, bei denen lediglich das Vorhandensein von Bedeutung ist, ist anzunehmen, dass die Atemkondensatsammlung weiterhin ein geeignetes Sammelverfahren für nicht-volatile Komponenten darstellt.

Bei anderen Anwendungsfällen unterscheiden sich die Konzentrationen relevanter Marker infolge krankhafter Lungenveränderungen um ein Vielfaches von den Werten gesunder Vergleichspersonen. Hierfür ist aufgrund des nahezu unveränderlichen Partikelgrößenspektrums in erster Näherung die Standardisierung auf den Anzahlstrom für hinreichend genaue Ergebnisse ausreichend. Die detaillierte Analyse der volumenäquivalenten Partikeldurchmesser, ermittelt aus den gesamten über das Lasair II-110 bestimmten Größenspektren, zeigt, dass größere Unterschiede insbesondere zwischen den gesunden Versuchspersonen und den Patienten mit COPD auftreten. So ergibt sich für einen gesunden Nichtraucher bei einem Ventilationsquotienten $V_T/VC = 0.6$ der kleinste Wert des gealterten Aerosols zu 322 nm, für einen COPD-Patienten der größte Wert zu 633 nm, entsprechend einem Unterschied in der Masse von einem Faktor von 7.6 bei gleicher Partikelanzahl. Innerhalb der Kollektive zeigen sich geringere Unterschiede, beispielsweise für die gesunden Versuchspersonen (Raucher und Nichtraucher) variieren die Extremwerte bezüglich der Masse nur um einen Faktor von 3.3.

Für die Konzentrationsbestimmung von Markern, für die vergleichsweise nur geringe Schwankungen zu erwarten sind, ist daher neben der simultanen Konzentrationsmessung, auch eine Bestimmung der Partikelgröße notwendig. Berechnungen haben jedoch gezeigt, dass an dieser Stelle die vereinfachte Partikelanzahlbestimmung zweier Fraktionen, unterhalb $0.5 \mu\text{m}$ und oberhalb $0.5 \mu\text{m}$, für die Aerosolmassenbestimmung ausreichend ist. Diese führt (unter Berücksichtigung

eines konstanten Korrekturfaktors) mit sehr geringen Abweichungen zu den gleichen Ergebnissen, wie die detaillierte Berechnung über die volumenäquivalenten Durchmesser.

Viele der weiteren teilweise bereits in der Literatur adressierten Schwächen (Holmgren et al., 2010; Hillas et al., 2009; Hunt, 2007; Horvath et al., 2005) der Atemkondensatsammlung, neben der fehlenden Standardisierung und der hohen Verdünnung der zu analysierenden Substanzen, wurden bei dem im Rahmen dieser Arbeit entwickelten neuartigen Verfahren der lokalisierten Trägheitsabscheidung gezielt berücksichtigt und soweit möglich umgangen. So sind die Abscheideeinheit bzw. das Schlauchsystem für die Zufuhr des Aerosols so konstruiert, dass grobe Partikel ab ca. 20 μm , die nachgewiesenermaßen nicht aus der tiefen Lunge stammen und zu starken Verfälschungen der Messungen führen können, bereits im Vorfeld abgeschieden werden. Dies erfolgt zum einen über die Sedimentation in der langen horizontalen Strecke (Länge 0.6 m, Durchmesser 18 mm), und zum anderen in dem sich anschließenden Schlauchbogen unmittelbar vor der Abscheideeinheit (Winkel 90°, Durchmesser 9 mm), ähnlich wie auch zuvor in den Studien von Fabian et al. (2011) veröffentlicht. In dem horizontalen Teil der Zufuhr sind weiterhin zwei Kondensatfallen integriert, um die direkte Kontamination des Abscheidesubstrats mit Speichel auszuschließen.

An dieser Stelle ist jedoch zu beachten, dass auch unter Anwendung des optimierten Atemmusters die für die Analyse zur Verfügung stehende absolute Masse an Tröpfchen aus der Lungenflüssigkeit mit 3 – 107 ng über eine 10-minütige Sammeldauer extrem gering ist. Folglich ist eine Vielzahl von Nachweismethoden, wie beispielsweise ELISA, an dieser Stelle ungeeignet, es kommen vielmehr nur äußerst nachweisempfindliche Verfahren in Betracht, wie die Immunodetektion oder die Massenspektrometrie (untere Detektionsgrenzen im Bereich von bis zu wenigen fg). Entsprechende Untersuchungen der nicht-volatilen Bestandteile der Lungenflüssigkeit könnten gute Aussagen über den immunologischen Zustand der Lunge geben.

7.3 Zusammenfassung und Diskussion

Im Rahmen dieses Kapitels werden die experimentell gewonnenen Ergebnisse für die systematische zeitlich aufgelöste Charakterisierung der physikalischen Eigenschaften exhalierter Aerosole sowie für den Einsatz geeigneter Sammelverfahren für nachfolgende Analyseschritte umfassend ausgewertet. Zusätzlich werden insbesondere über den Einsatz des semiempirischen BA-Modells für die Analyse von den Wechselwirkungen der endogen generierten Partikel mit der Lunge umfangreiche theoretische Untersuchungen vorgenommen, mit dem Ziel, eine bessere Einschätzung für das diagnostische Potential der Partikelanalyse zu gewinnen.

Es stellt sich heraus, dass die atemzuggemittelte Analyse sowohl der Partikelanzahlemission als auch des Größenspektrums nicht für die Detektion von Krankheiten auf Basis von Referenzwerten gesunder Vergleichspersonen geeignet ist. Nach dem derzeitigen Kenntnisstand ist es jedoch denkbar, dass das intra-individuell extrem reproduzierbare Partikelemissionsmuster einen Fingerabdruck des aktuellen Zustands der Lunge darstellt und somit für die individuelle Verlaufskontrolle von Krankheiten geeignet sein könnte.

Im Gegensatz zu den atemzuggemittelten Untersuchungen zeigt die erstmalig durchgeführte atemzug aufgelöste Analyse der Partikeleigenschaften deutliche systematische Veränderungen in Abhängigkeit des Gesundheitszustands der Lunge. Das Dispersionsverhalten des endogen generierten Aerosolbolus kann vermutlich prinzipiell für die Untersuchung des konvektiven Transports der Atemluft herangezogen werden. Die entsprechende Analyse der Partikelkonzentration über den individuellen Exhalationsvorgang ermöglicht jedoch bei Weitem keine ausreichend sensitive Klassifizierung der Testperson.

Im Gegensatz dazu zeigen sich für den Verlauf des Größenspektrums über den Exhalationsvorgang signifikante Veränderungen in Abhängigkeit des Gesundheitszustands, die eine Unterscheidung der gesunden Personen von COPD-Patienten erlauben. Von besonderem Interesse ist dabei die Gruppe der gemäß konventioneller Lungenfunktionsprüfung als gesund eingestuften Raucher, von denen der eine Teil Werte wie gesunde Nichtraucher hat, während der andere Teil Werte, wie sie bei Patienten mit milder COPD vorliegen, aufweist.

Von herausragender Bedeutung sowohl für die Generierung des genauen Verständnisses der Prozesse der Aerosolgenerierung und des Aerosoltransports als auch die diagnostische Nutzbarkeit dieser Befunde sind die erstmals durchgeführten Untersuchungen unter Mikrogravitationsverhältnissen, d.h. unter Minimierung der Redeposition der generierten Aerosole in den komplexen Lungenstrukturen. Diese legen auch auf experimentellem Wege nahe, dass die ursprünglich in der Lunge generierte Partikelgrößenverteilung invariant ist. Unter dieser Annahme sind die Unterschiede nur auf Veränderungen im Redepositionsmuster in den komplexen Lungenstrukturen, genauer gesagt auf das verweilzeitabhängige Sedimentationsverhalten der Tröpfchenfraktion oberhalb $1\ \mu\text{m}$, zurückzuführen.

Über den Einsatz des zeitlich aufgelösten Größenverhältnisses $N(> 0.5\ \mu\text{m})/N_{\text{ges}}$ als internen Standard sind ohne die Kenntnis der Generationsrate der Aerosole in der Lunge über das Verweilzeitverhalten Rückschlüsse auf vorliegenden Atemwegsdimensionen möglich (indirekte Vermessung der Atemwegsdurchmesser). Diese wiederum werden zum einen durch den Belüftungszustand der Lunge und zum anderen durch die Lungenstruktur, insbesondere die morphometrischen Verhältnisse, bestimmt. Die erhebliche Verbesserung der Exhalatuntersuchung durch die systematische zeitlich hoch aufgelöste Untersuchung individueller Ausatemvorgänge in Kombination mit den Resultaten aus den Untersuchungen unter variablen Gravitationsverhältnissen ermöglicht erst die Entwicklung der Grundlagen eines auf den physikalischen Eigenschaften der exhalierten Aerosole basierenden Diagnostikverfahrens, das nach unserem Verständnis hochsensitiv Rückschlüsse auf die Lungenmorphologie und -ventilation erlaubt. Zugrunde liegt dabei die Tatsache, dass das Sedimentationsverhalten nahezu ausschließlich von den Dimensionen der Atemwegsstrukturen der Lungenperipherie abhängt, die den Ausgangspunkt vieler Lungenerkrankungen darstellt. Experimentelle Studien zeigen, dass diese sowohl in Form von Änderungen des Belüftungszustands (Macklem, 2010; Corbin et al., 1979; Cosio et al., 1978) als auch der Lungenstruktur (Quirk et al., 2011; Niewöehner et al., 1974; Brand et al., 2003) auftreten.

Weiterhin wird das semiempirische BA-Modell erfolgreich auf die Abbildung zeitlich hoch aufgelöster Wechselwirkungen der endogen generierten Partikel mit den komplexen Lungenstrukturen innerhalb des Atemzyklus erweitert (Single Breath Analysis, SBA-Modell). Die Ergebnisse der durchgeführten Untersuchungen unterstützen die Annahme, dass die Partikelgrößenanalyse im Exhalat strukturelle Unterschiede in den äußeren

Bereichen der Lunge sensitiv erfasst. Somit könnte die Partikelgrößenanalyse über die Abbildung sowohl der Morphometrie als auch des Ventilationszustands der feinen Lungenstrukturen ein gegenüber der konventionellen Lungenfunktionsprüfung in besonderem Maße geeignetes Verfahren für die Früherkennung von krankhaften Veränderungen darstellen.

Weiterhin stellen die endogen in der Lunge generierten exhaliierten Aerosole eine auf völlig nicht-invasivem Wege gewinnbare Mikroprobe aus der Lungenflüssigkeit dar, so dass auch die biochemischen Eigenschaften von besonderem Interesse sind. Das derzeit etablierte Verfahren der Partikelabscheidung stellt die Atemkondensatsammlung dar, die jedoch bekanntermaßen mit einer Reihe von Unsicherheiten behaftet ist, u.a. der verfahrensbedingt sehr hohen Verdünnung der zu analysierenden Substanzen.

Auch bei Anwendung eines optimierten Atemmusters mit einem Ventilationsquotienten $V_T/VC = 0.7$ ergibt sich unter Annahme eines volumenäquivalenten Durchmessers von $0.8 \mu\text{m}$ über ein 10-minütiges Sammelintervall ein sehr geringes emittiertes Volumen zwischen 2.7 und 107 pl. Die aus der hohen Verdünnung durch die Auskondensation des Wasserdampfes resultierenden Konzentrationen relevanter Biomarker liegen daher in der Regel, wie von Larson et al. (2012) und Holmgren (2010) theoretisch und experimentell festgestellt, unterhalb der Detektionsgrenzen relevanter Analytikverfahren.

Das als Alternative sowohl zur Atemkondensatsammlung als auch zur Partikelabscheidung mittels Kaskadenimpaktor (Larson et al., 2012, Holmgren et al., 2010; Almstrand et al., 2009) entwickelte Verfahren der direkten sehr lokalisierten, linienförmigen Impaktionsabscheidung der Partikel unmittelbar auf dem Analysensubstrat stellt eine gut geeignete, sehr nachweisstarke und insbesondere einfach umsetzbare und kostengünstige Methode der Partikelsammlung für nachfolgende Analysen dar. Dennoch ist an dieser Stelle kritisch zu bemerken, dass aufgrund der sehr geringen absoluten Mengen an Aerosolen nur hochsensitive Analyseverfahren geeignet sind und Limitationen bezüglich des detektierbaren Spektrums relevanter Marker zu erwarten sind. Weiterhin sind auch keine exakten Rückschlüsse von den Analyseergebnissen auf die in dem Epithelflüssigkeitsfilm vorliegenden Konzentrationen nicht-volatiler Biomarker möglich. Für eine abschließende Bewertung des Potentials dieses Verfahren sind daher noch sehr umfangreiche Untersuchungen notwendig.

8 Zusammenfassung und Ausblick

Die Ausatemluft des Menschen enthält neben gasförmigen Komponenten feinste Mikrotröpfchen. Diese stellen eine auf nicht-invasivem Wege gewinnbare Mikroprobe aus dem Epithelflüssigkeitsfilm des Respirationstraktes dar. Die nahe liegende Analytik der nicht-volatilen Substanzen, basierend auf der Abscheidung der Partikel hat bislang aufgrund der schlechten Reproduzierbarkeit der Messergebnisse noch keinen Eingang in die klinische Routine gefunden. Ursache hierfür sind fehlende systematische Untersuchungen zu den physikalischen Eigenschaften, d.h. Anzahl und Größe der exhalieren Aerosole, insbesondere auch bei krankhaften Lungenveränderungen.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, ein qualitatives und quantitatives Verständnis der Prozesse der Aerosolgenerierung und des Aerosoltransports für die gesunde und die kranke Lunge als Basis für die Einschätzung der diagnostischen Nutzbarkeit exhalierter Aerosole zu gewinnen, sowohl hinsichtlich der biochemischen Zusammensetzung als auch bezüglich der rein physikalischen Eigenschaften, d.h. Anzahl und Größe.

Zusammenfassend stand die Klärung/Beschreibung folgender Aspekte im Vordergrund:

- Klärung des Mechanismus und Ortes der endogenen Aerosolentstehung
- physikalische Eigenschaften der generierten Aerosole am Entstehungsort
- Transport- und Abscheidungsprozesse der generierten Partikel in der Lunge
- Partikelkonzentrationen und -größenspektren im Exhalat in Abhängigkeit von respirationsphysiologischen Kenngrößen und Lungenfunktionsparametern
- krankheitsbedingte Einflüsse auf die Aerosolgenerierung und den -transport
- Reproduzierbarkeit der Messergebnisse
- Eignung der physikalischen und der biochemischen Eigenschaften der Partikel für diagnostische Zwecke
- Optimierung der Sammlung exhalierter Aerosole für nachfolgende Analysen

Hierfür wurde erfolgreich ein Versuchsaufbau entwickelt, der, basierend auf der zeitlich hoch aufgelösten simultanen Erfassung der Aerosolkonzentration, des Größenspektrums und der Atemflussraten, die Beurteilung der Partikelkenngößen in Abhängigkeit des Atemmusters, aber auch innerhalb des individuellen Expirationsvorgangs erlaubt.

Über die systematische Charakterisierung der exhalieren Aerosole, insbesondere auch anhand der Ergebnisse erstmals unter Mikrogravitationsverhältnissen durchgeführter Untersuchungen, konnte die Wiedereröffnung peripherer Atemwegsstrukturen sowohl für die gesunde als auch obstruktiv veränderte Lunge (COPD, Asthma) als relevanter Mechanismus der Aerosolentstehung bei normaler Atmung identifiziert bzw. bestätigt werden. Am Ende des Exhalationsvorgangs führen oberflächenspannungsbedingte Instabilitäten in der Surfactantschicht zu einem strukturellen Kollaps der Atemwegsstrukturen in der Lungenperipherie. Der zunehmende transmurale Druck während der Inhalation führt zu der Wiedereröffnung verschlossener Atemwege, verbunden mit einer schlagartigen Flüssig-Flüssig-Trennung des Epithelflüssigkeitsfilms und der Entstehung feiner Tröpfchen.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit erfolgte die erste und bislang einzige direkte quantitative Abschätzung der Tröpfchengröße der in der Lunge bei der Wiedereröffnung peripherer Atemwegsstrukturen generierten Aerosole über die Kombination experimenteller Studien, insbesondere unter Mikrogravitation, sowie umfassender theoretisch-mathematischer Betrachtungen. Die Kernaussage für die Betrachtungen stellt die Erkenntnis dar, dass die Tropfengröße der exhalierten Aerosole unmittelbar auf die kritische Filmdicke, d.h. die Filmdicke, bei der der sich ausdünnende Surfactantfilm in Folge von Instabilitäten aufbricht, zurückzuführen ist. Hierauf aufbauend ist erstmals ein detailliertes Verständnis der Vorgänge der Aerosolbildung möglich, sowie darüber hinaus insbesondere auch die Ableitung eines quantitativen Zusammenhangs für die Tröpfchengröße über die Verwendung bekannter Skalengesetze für das Aufreißen dünner Flüssigkeitsfilme.

Aus diesem neuartigen Ansatz folgt, dass die resultierende Tröpfchengröße nur eine sehr schwache Abhängigkeit von den rheologischen Eigenschaften, wie Oberflächenspannung und Viskosität, und dem Filmradius zeigt. Nach dieser Hypothese sind, wie auch die Untersuchungen unter Mikrogravitationsbedingungen nahe legen, für alle Personen, unabhängig vom Gesundheitszustand, nur geringe Varianzen für das Tröpfchengrößenspektrum der endogen generierten Aerosole zu erwarten.

Der überwiegende Anteil der Partikel liegt im submikronen Bereich, wobei sich die obere Tröpfchengröße etwa bei 5 μm bewegt, die untere liegt bei ca. 0.2 μm . Demzufolge sind die Eigenschaften exhalierter Aerosole in erster Linie von den Eigenschaften der ursprünglich generierten Aerosole bestimmt, nur in den peripheren Lungenstrukturen mit Durchmessern zwischen 200 – 500 μm treten in geringem Umfang sedimentationsbedingte Verluste der supermikronen Fraktion auf.

Für die individuelle Versuchsperson sind entsprechend des Entstehungsmechanismus die endexpiratorische Atemlage und damit verbunden das Atemzugvolumen die entscheidenden Faktoren für die Anzahlmission, inter-individuell ist eine Abhängigkeit von der Atemlage (*FRC/TLC*) zu beobachten. Für alle Probanden steigt die Partikelanzahl pro Atemzug einer Potenzfunktion folgend an, wobei unabhängig vom Gesundheitszustand der Lunge inter-individuell eine Varianz um einen Faktor von bis zu 100 zu beobachten ist. Das über einen Atemzug gemittelte Partikelgrößenspektrum ist im Rahmen enger Varianzen unabhängig von der Testperson, der anzahlbezogene Medianwert beträgt 0.3 μm .

Für die zeitlich hoch aufgelöste Analyse der Größenverteilung über einen individuellen Exhalationsvorgang bei hohem Atemzugvolumen ergeben sich hingegen deutliche Unterschiede zwischen Gesunden, gesunden Rauchern und Patienten mit milder COPD und Asthma. Nachdem das Spektrum der ursprünglich generierten Tröpfchen nahezu invariant ist, weisen die beobachteten Unterschiede auf ein lungenmorphologisch bzw. physiologisch verändertes Redepositionsverhalten der Partikel in der Lungenperipherie hin. Nach dem Verständnis der Autorin sind dies zum einen überblähte, vergrößerte Atemwegsstrukturen, wie sie im Zusammenhang mit der COPD auftreten, und zum anderen die reduzierte Ventilation der äußeren Lungenbereiche infolge vermehrter Atemwegsverschlüsse bei obstruktiven Atemwegserkrankungen. Es liegt nahe, dass über die Analyse des partikelgrößenabhängigen Sedimentationsverhaltens eine indirekte Vermessung des Durchmessers peripherer Atemwegsstrukturen analog den Untersuchungen mit inhalierten Testaerosolen erfolgt (siehe z.B. Lehnigk et al., 2001).

Für den individuellen Probanden ist das Partikelemissionsmuster extrem gut reproduzierbar und stellt somit einen Fingerabdruck des aktuellen Lungenstatus dar.

Aufbauend auf der Lungengeometrie nach Weibel (1963) wurde im Rahmen der Arbeit zum ersten Mal ein Modell für die theoretische Untersuchung der Wechselwirkungen der endogen generierten, exhalieren Aerosole mit den komplexen Lungenstrukturen entwickelt. Die sehr gute Übereinstimmung zwischen theoretischen und experimentellen Ergebnissen zum Einfluss messtechnisch erfassbarer Parameter auf die exhalieren Größenspektren lassen vermuten, dass dieses semi-empirische Modell die in der Lunge vorliegenden morphologischen und physiologischen Verhältnisse gut widerspiegelt, so dass eine Einschätzung zum diagnostischen Potential der Partikelgrößenanalyse ableitbar ist. Umfangreiche Studien unter Variation verschiedenster Kenngrößen unterstützen die Hypothese, dass die beobachteten Veränderungen vermutlich auf eine Reduktion des ventilieren Lungenvolumens bzw. erweiterte periphere Atemwegsstrukturen infolge krankhafter Lungenveränderungen zurückzuführen sind.

Bei der Mehrzahl der Lungenerkrankungen stellen diese Bereiche einen zentralen Ort und insbesondere auch den Ausgangspunkt der Erkrankung dar. Derzeit etablierte, mit geringem Aufwand durchführbare Verfahren der Lungenfunktionsprüfung, d.h. v. a. spirometrische Verfahren, erfassen diese Veränderungen nur unzureichend, so dass die Entwicklung einfach durchführbarer, kostengünstiger nicht-invasiver Verfahren für eine routinemäßige Detektion früher struktureller und ventilationsbedingter Veränderungen von zentraler Bedeutung in der Pneumologie ist. Die Analyse der physikalischen Eigenschaften der endogen generierten, exhalieren Aerosole spiegelt genau die Vorgänge in diesen schwer zugänglichen äußeren Lungenbereichen wieder. Sie könnte daher in besonderem Maße für die Früherkennung, sowie aufgrund der guten intra-individuellen Reproduzierbarkeit, insbesondere auch die Verlaufskontrolle peripherer Lungenerkrankungen geeignet sein.

Weiterhin folgt aus der systematischen Bestimmung der physikalischen Eigenschaften exhalierter Partikel, dass für die Generierung valider biochemischer Analyseergebnisse aus exhalieren Aerosolen aufgrund der extrem geringen Massenströme der Einsatz nachweisstarker Sammel- und Analyseverfahren essentiell ist. Als Basis für die zukünftige Nutzung dieser Matrix für eine routinemäßige immunologische Untersuchung der Lunge wurde ein neuartiges Verfahren, basierend auf der direkten lokalisierten Abscheidung des Aerosols auf einer schmalen Linie unmittelbar auf dem Analysesubstrat, erfolgreich entwickelt und getestet. Aufgrund der hohen inter-individuellen Varianz der Aerosolemission ist die simultane Erfassung der physikalischen Eigenschaften der Aerosole für die Standardisierung der Analyseergebnisse unumgänglich.

Die Etablierung dieses Verfahrens könnte entscheidend dazu beitragen, das Thema der Untersuchung nicht-volatiler Komponenten im Exhalat als nicht-invasives Diagnostikverfahren nach den zahlreichen Schwierigkeiten, die die Weiterentwicklung in der Vergangenheit stark gebremst haben, wieder neu zu beleben.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde darüber hinaus ein neuartiges Detektionsverfahren für exhalierter Aerosole erfolgreich umgesetzt, das die Wasserdampfkondensation aus der bereits mit Wasserdampf gesättigten Ausatemluft für das Partikelwachstum ausnutzt. Erst die Entwicklung dieses kostengünstigen und einfachen Verfahrens stellt die notwendige Basis für einen möglichen zukünftigen Einsatz der Partikelanalyse im Exhalat, basierend auf der Erfassung von Anzahlströmen, in größerem Umfang dar.

Zusammenfassend ist es im Rahmen dieser Arbeit über systematische experimentelle und theoretische Untersuchungen gelungen, ein sehr umfassendes qualitatives und insbesondere quantitatives Verständnis der Prozesse der Aerosolentstehung und des Aerosoltransports in der Lunge zu generieren, sowie eine umfangreiche wissenschaftliche Datenbasis zu den Eigenschaften exhalierter Aerosole sowohl für die gesunde als auch die kranke Lunge zu erstellen. Über diese Ergebnisse wurden erstmalig die Voraussetzungen für die Weiterentwicklung und Etablierung der Partikelanalyse im Exhalat als nicht-invasives Verfahren für die Diagnostik geschaffen.

Für die Validierung sowohl der physikalischen als auch biochemischen Analysemethoden für die (Früh)erkennung und die Verlaufskontrolle krankhafter Lungenveränderungen sind sowohl hinsichtlich der technischen Umsetzung als auch der Bestätigung der Sensitivität und Spezifität noch umfangreiche klinische Studien, insbesondere auch Längsschnittstudien, notwendig.

9 Literaturverzeichnis

- Abramovich, G. N. The Theory of Turbulent Jets. Cambridge: M.I.T. Press, 1963.
- Alencar, A. M., et al. "Crackles and instabilities during lung inflation." Physica A-Statistical Mechanics and Its Applications 357.1 (2005): 18-26.
- Almstrand, A. C., et al. "Airway Monitoring by Collection and Mass Spectrometric Analysis of Exhaled Particles." Analytical Chemistry 81.2 (2009): 662-68.
- Almstrand, A. C., et al. A: "Effect of airway opening on production of exhaled particles." Journal of Applied Physiology 108.3 (2010): 584-88.
- Almstrand, A. C., et al. B: "Breath-holding increases the number of particles in exhaled air." Thematic Poster Session : From rare towards common lung diseases: diagnostic and monitoring challenges . Annual Meeting of the European Respiratory Society Annual Congress. Barcelona, Spanien 18. - 22.9. 2010
- Almstrand, A. C., et al. "TOF-SIMS analysis of exhaled particles from patients with asthma and healthy controls." European Respiratory Journal 39 (2012): 59-66.
- Anderson, P. J. und M. B. Dolovich. "Aerosols As Diagnostic-Tools." Journal of Aerosol Medicine-Deposition Clearance and Effects in the Lung 7.1 (1994): 77-88.
- Angarska, J., C. Stubenrauch, and E. Manev. "Drainage of foam films stabilized with mixtures of non-ionic surfactants." Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects 309 (2007): 189-97.
- Anthonisen, N. R., et al. "Airway closure as a function of age." Respiration Physiology 8 (1969): 58-65.
- Asgharian, B., R. Wood, und R. B. Schlesinger. "Empirical Modeling of Particle Deposition in the Alveolar Region of the Lungs: a Basis for Interspecies Extrapolation." Fundamental and Applied Toxicology 27.2 (1995): 232-38.
- Asgharian, B., W. Hofman, und R. Bergmann. "Particle deposition in a multiple-path model of the human lung." Aerosol Science and Technology 34.4 (2001): 332-39.
- Bates, D. V., et al. "Chronic bronchitis. Report on the third and fourth stages of the co-ordinated study of chronic bronchitis in the Department of Veterans Affairs, Canada." Canadian Services Medical Journal 22.1 (1966): 1-59.
- Bayley, D. L., et al. "Validation of assays for inflammatory mediators in exhaled breath condensate." European Respiratory Journal 31.5 (2008): 943-48.
- Beinert, T., et al. "Peripheral Airspace Dimensions in Patients with COPD." Chest 108.4 (1995): 998-1003.

- Biller, H. et al., et al. "Characterization Of Exhaled Particles From The Human Lung In Airway Obstruction." American Thoracic Society International Conference 2012, San Francisco, Kalifornien, USA, 18.–23.05.2012. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine 185: A5747
- Blanchard, J. D. B: "Aerosol bolus dispersion and aerosol-derived airway morphometry: Assessment of lung pathology and response to therapy .2." Journal of Aerosol Medicine-Deposition Clearance and Effects in the Lung 9.4 (1996): 453-76.
- Blanchard, J. D. A: "Aerosol bolus dispersion and aerosol-derived airway morphometry: Assessment of lung pathology and response to therapy .1." Journal of Aerosol Medicine-Deposition Clearance and Effects in the Lung 9.2 (1996): 183-205.
- Boenisch, G., et al. "Die Lungenfunktionsprüfung in der Praxis." Pneumologische Notizen, Sonderausgabe 2003 (2003).
- Borrill, Z. L., K. Roy, und D. Singh. "Exhaled breath condensate biomarkers in COPD." European Respiratory Journal 32.2 (2008): 472-86.
- Bousquet, J. "Global Initiative for Asthma (GINA) and its Objectives." Clinical and Experimental Allergy 30.1 (2000): 2-5.
- Brand, P., et al. "Detection of Early Lung Impairment with Aerosol Bolus Dispersion." European Respiratory Journal 7.10 (1994): 1830-38.
- Brand, P., et al. "Aerosol Derived Airway Morphometry in Healthy-Subjects." European Respiratory Journal 8.10 (1995): 1639-46.
- Brand, P., et al. "Aerosol bolus dispersion in healthy subjects." European Respiratory Journal 10.2 (1997): 460-67.
- Brand, P., et al. "Aerosol-derived airway morphometry and aerosol bolus dispersion in patients with lung fibrosis and lung emphysema." Chest 116.2 (1999): 543-48.
- Brand, P., et al. "Can Aerosol-Derived Airway Morphometry Detect Early, Asymptomatic Lung Emphysema." Journal of Aerosol Medicine 16.2 (2003): 143-51.
- Bredberg, A., et al. "Exhaled endogenous particles contain lung proteins." Clinical Chemistry 58 (2012): 431-40.
- Bundesärztekammer (BÄK), Arbeitsgemeinschaft der Deutschen Ärztekammern, Kassenärztliche Bundesvereinigung (KBV), und Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften (AWMF) u.a. „Nationale Versorgungsleitlinie Asthma Langfassung." 2011.
- Bundesärztekammer (BÄK), Arbeitsgemeinschaft der Deutschen Ärztekammern, Kassenärztliche Bundesvereinigung (KBV), und Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften (AWMF) u.a. „Nationale Versorgungsleitlinie COPD Langfassung." 2012.

- Burger, E. J. and P. Macklem. "Airway closure: demonstration by breathing 100 percent O₂ at low lung volumes and by N₂ washout." Journal of Applied Physiology 25.2 (1968): 139-48.
- Cassidy, K. J., et al. "Surfactant effects in model airway closure experiments." Journal of Applied Physiology 87.1 (1999): 415-27.
- Chan, T. L. und M. Lippmann. "Experimental Measurements and Empirical Modelling of the Regional Deposition of Inhaled Particles in Humans." American Industrial Hygiene Association Journal 41.6 (1980): 399-409.
- Cohen, B. S. und B. Asgharian. "Deposition of Ultrafine Particles in the Upper Airways: An Empirical Analysis." Journal of Aerosol Science 21.6 (1990): 789-97.
- Comer, J. K., C. Kleinstreuer, and Z. Zhang. "Flow Structures and Particle Deposition Patterns in Double-Bifurcation Airway Models. Part 2. Aerosol Transport and Deposition." Journal of Fluid Mechanics 435 (2001): 55-80.
- Coons, J. E., et al. "Scaling laws for the critical rupture thickness or common thin films." Colloids and Surfaces A-Physicochemical and Engineering Aspects 263.1-3 (2005): 258-66.
- Corbin, R. P., et al. "A Four-Year Follow-Up Study of Lung Mechanics in Smokers." AMERICAN REVIEW OF RESPIRATORY DISEASE 120.2 (1979): 293-304.
- Cosio, M., et al. "The Relations between Structural Changes in Small Airways and Pulmonary-Function Tests." The New England Journal of Medicine 298 (1978): 1277-81.
- Daheshia, M. "Pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease (COPD)." Clinical and Applied Immunology Reviews 5.5 (2005): 339-51.
- Dargaville, P. A., M. South, und P. McDougall. "Surfactant abnormalities in infants with severe viral bronchiolitis." Archives of Disease in Childhood. 75.2 (1996): 133-36.
- Darquenne, C., et al. "Effect of microgravity and hypergravity on deposition of 0.5- to 3- μ m-diameter aerosol in the human lung." Journal of Applied Physiology 83.6 (1997): 2029-36.
- Derjaguin, B. V. Theory of the Stability of Colloids and Thin Films. Springer, Berlin, 1989.
- Dollfuss, R. E., J. Milic-Emili, und D. V. Bates. "Regional Ventilation of the Lung, Studied with Boluses of 133Xenon." Respiration Physiology 2 (1967): 234-46.
- Edwards, D. A., et al. "Inhaling to mitigate exhaled bioaerosols." Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 101.50 (2004): 17383-88.

- Effros, R. M., et al. "The promise and perils of exhaled breath condensates." American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology 287.6 (2004): L1073-L1080.
- Effros, R. M., et al. "Epithelial lining fluid solute concentrations in chronic obstructive lung disease patients and normal subjects." Journal of Applied Physiology 99.4 (2005): 1286-92.
- Effros, R. M. "Exhaled Breath Condensate Delusion or Dilution?" Chest 138.3 (2010): 471-72.
- Ellyet, K. M., P. A. Cragg, und R. S. Broadbent. "Effect of surfactant deficiency and surfactant replacement on airway patency in the piglet lung." Respiratory Physiology and Neurobiology 150 (2006): 173-81.
- Evrensel, C. A., et al. "Viscous Air-Flow Through A Rigid Tube with A Compliant Lining - A Simple-Model for the Air-Mucus Interaction in Pulmonary Airways." Journal of Biomechanical Engineering-Transactions of the Asme 115.3 (1993): 262-70.
- Fabian, P., et al. A: "Origin of Exhaled Breath Particles from Healthy and Human Rhinovirus-Infected Subjects." Journal of Aerosol Medicine and Pulmonary Drug Delivery 24.3 (2011): 137-47.
- Fabian, P., et al. B: "Influenza Virus Aerosols in Human Exhaled Breath: Particle Size, Culturability, and Effect of Surgical Masks." Epidemiology 22.1 (2011): S51.
- Fairchild, C. I. und J. F Stampfer. "Particle concentration in exhaled breath." American Industrial Hygiene Association Journal 48 (1987): 948-949.
- Farah, C. S., et al. "The Role of the Small Airways in the Clinical Expression of Asthma in Adults." Journal of Allergy and Clinical Immunology 129.2 (2012): 381-87.
- Fiegel, J., R. Clarke, und D. A. Edwards. "Airborne infectious disease and the suppression of pulmonary bioaerosols." Drug Discovery Today 11.1-2 (2006): 51-57.
- Finlay, W. H. "Particle Deposition in the Respiratory Tract." The Mechanics of Inhaled Pharmaceutical Aerosols - An Introduction. San Diego: Academic Press, 2001. 119-174.
- Fletcher, C. M., et al. "Terminology, Definitions, and Classification of Chronic Pulmonary Emphysema and Related Conditions. A Report of the Conclusions of a CIBA Guest Symposium." Thorax 14.286 (1959): 299.
- Frazer, D. G., et al. "Model predictions of the recruitment of lung units and the lung surface area-volume relationship during inflation." Annals of Biomedical Engineering 32.5 (2004): 756-63.
- Gaver, D. P., R. W. Samsel, und J. Solway. "Effects of Surface-Tension and Viscosity on Airway Reopening." Journal of Applied Physiology 69.1 (1990): 74-85.

- Gebhart, J., et al. "The human lung as aerosol generator." Journal of Aerosol Medicine 1 (1988): 196-97.
- Geßner, C. Das Atemkondensat - Nicht-Invasiv Gewonnene Biochemische Informationen Aus Der Lunge. Lengerich, Berlin, Bremen, Berlin, Miami, Riga, Viernheim, Wien, Zagreb: Pabst Science Publishers, 2006.
- Glaister, D. H., et al. "Transpulmonary Pressure-Gradient and Ventilation Distribution in Excised Lungs." Respiration Physiology 17.3 (1973): 365-85.
- Goerke, J. "Surfactant and Lung Mechanics." Pulmonary Surfactant: from molecular biology to clinical practice. Hrsg. B. Robertson, L. M. G. Van Golde, and J. J. Batenburg. Amsterdam: Elsevier Science, 1992.
- Gonda, I. "A Semi-Empirical Model of Aerosol Deposition in the Human Respiratory Tract for Mouth Inhalation." Journal of Pharmacy and Pharmacology 33.1 (1981): 692-96.
- Gough, J. "The pathology of emphysema." Postgraduate Medical Journal 41 (1965): 392-400.
- Griese, M. "Pulmonary surfactant in health and human lung diseases: state of the art." European Respiratory Journal 13 (1999): 1455-76.
- Griese, M., et al. "Pulmonary surfactant, lung function, and endobronchial inflammation in cystic fibrosis." American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine 170.9 (2004): 1000-05.
- Grob, N. M., M. Aytekin, und R. A. Dweik. "Biomarkers in exhaled breath condensate: a review of collection, processing and analysis." Journal of Breath Research 2.3 (2008).
- Grotberg, J. B. "Respiratory fluid mechanics and transport processes." Annual Review of Biomedical Engineering. 3 (2001): 421-57.
- Haefelibleuer, B. und E. R. Weibel. "Morphometry of the Human Pulmonary Acinus." Anatomical Record 220.4 (1988): 401-14.
- Hamm, H., C. Kroegel, und J. Hohlfeld. "Surfactant: a review of its functions and relevance in adult respiratory disorders." Respiratory Medicine (1996): 251-70.
- Hasegawa, M., et al. "Airflow limitation and airway dimensions in chronic obstructive pulmonary disease." American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine 173.12 (2006): 1309-15.
- Haslbeck, K., et al. "Submicron droplet formation in the human lung." Journal of Aerosol Science 41.429 (2010): 438.
- Haslbeck, K. Entstehung Exhalierter Tröpfchen in den Terminalen Atemwegen. Diss. Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover, 2011.

- Heil, M., A. L. Hazel, und J. A. Smith. "The mechanics of airway closure." Respiratory Physiology & Neurobiology 163.1-3 (2008): 214-21.
- Heyder, J. und J. Gebhart. "Gravitational deposition of particles from laminar aerosol flow through inclined circular tubes." Journal of Aerosol Science 8 (1977): 289-95.
- Heyder, J. "Examining the Human Lung with Aerosols." Journal of Aerosol Science 19.7 (1988): 1063-65.
- Heyder, J. "Assessment of Airway Geometry with Inert Aerosols." Journal of aerosol medecine 2.2 (1989): 89-97.
- Heyder, J. "Deposition of Inhaled Particles in the Human Respiratory Tract and Consequences for Regional Targeting in Respiratory Drug Delivery." Proceedings of the American Thoracic Society 1 (2004): 315-20.
- Hillas, G., et al. "Biomarkers Obtained by Non-Invasive Methods in Patients with COPD: Where do we Stand, what do we Expect?" Current Medicinal Chemistry 16.22 (2009): 2824-38.
- Hinds, W. C. Aerosol Technology - Properties, Behavior and Measurement of Airborne Particles. Hrsg. W. C. Hinds. 2. Auflage, New York, Chichester: John Wiley & Sons, 1999.
- Hofmann, W. und L. Koblinger. "Monte Carlo Modeling of Aerosol Deposition in Human Lungs. Part II. Deposition Fractions and Their Sensitivity to Parameter Variations." Journal of Aerosol Science 21.5 (1990): 675-88.
- Hofmann, W., et al. "The Effect of Heterogeneity of Lung Structure on Particle Deposition in the Rat Lung." Toxicological Sciences 53.2 (2000): 430-37.
- Hofmann, W., B. Asgharian, und R. Inker-Hein. "Modeling intersubject variability of particle deposition in human lungs." Aerosol Science 33 (2002): 219-35.
- Hofmann, W., E. Pawlak, und R. Sturm. "Semi-Empirical Stochastic Model of Aerosol Bolus Dispersion in the Human Lung." Inhalation Toxicology 20.12 (2008): 1059-73.
- Hofmann, W. "Modelling inhaled particle deposition in the human lung - A review." Journal of Aerosol Science 42 (2011): 693-724.
- Hogg, J. C. "Site and Nature of Airway-Obstruction in Chronic Obstructive Lung-Disease." The New England Journal of Medicine. 278 (1968): 1355-1360
- Hogg, J.C. "Lung structure and function in COPD." The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease 12.5 (2008): 467-79.
- Hogg, J. C., et al. "Micro-Computed Tomography Measurements of Peripheral Lung Pathology in Chronic Obstructive Pulmonary Disease." Proceedings of the American Thoracic Society 6 (2009): 546-49.

- Hohlfeld, J., et al. Die Nutzung des Anzahlstroms endogen generierter Partikeln in der Ausatemluft des Menschen zur Diagnose von Lungenkrankheiten. Patentanmeldung, 07.05.2009.
- Hohlfeld, J. und K. Schwarz. "Exhaled particles as a biomarker". 10. Workshop „Models of Asthma and COPD, Hannover, Deutschland, 21.-22.01.2011
- Holmgren, H., et al. "Size distribution of exhaled particles in the range from 0.01 to 2.0 μm ." Journal of Aerosol Science 41.5 (2010): 439-46.
- Holmgren, H., et al. "Relation between humidity and size of exhaled particles." Journal of Aerosol Medicine and Pulmonary Drug Delivery 24.5 (2011): 253-60.
- Holmgren, H. und E. Ljungstrom. "Influence of film dimensions on film droplet formation." Journal of Aerosol Medicine and Pulmonary Drug Delivery 25.1 (2012): 47-53.
- Horvath, I., et al. "Exhaled breath condensate: methodological recommendations and unresolved questions." European Respiratory Journal 26.3 (2005): 523-48.
- Hughes, J. M. B., D. Y. Rosenzwe, und P. B. Kivitz. "Site of Airway Closure in Excised Dog Lungs - Histologic Demonstratiion." Journal of Applied Physiology 29.3 (1970): 340-44.
- Hunt, J. "Exhaled breath condensate: An evolving tool for noninvasive evaluation of lung disease." Journal of Allergy and Clinical Immunology 110.1 (2002): 28-34.
- Hunt, J. "Exhaled breath condensate: An overview." Immunology and Allergy Clinics of North America 27.4 (2007): 587-596.
- Hunter, R. J. "Introduction to Modern Colloid Science." London Acad.Press (1994): 165-209.
- ICRP. ICRP Publication 66 - Human Respiratory Tract Model for Radiological Protection: A Report of a Task Group of He International Commission on Radiological Protection. 1994.
- Ingham, D. B. "Diffusion of aerosols from a stream flowing through a cylindrical tube." Journal of Aerosol Science 6 (1975): 125-132.
- Jain, R. K., Ivanov, I. B., Maldarelli, C., und Ruckenstein, E. Instability and rupture of thin liquid films. 140-67. 1978.
- Johnson, G. R. und L. Morawska. "The Mechanism of Breath Aerosol Formation." Journal of Aerosol Medicine and Pulmonary Drug Delivery 22.3 (2009): 229-37.
- Johnson, M., et al. "The Nonlinear Growth of Surface-Tension-Driven Instabilities of A Thin Annular Film." Journal of Fluid Mechanics 233 (1991): 141-56.

- Kaminsky, D. A. "Peripheral lung mechanics in asthma: Exploring the outer limits." Pulmonary Pharmacology & Therapeutics 24.2 (2011): 199-202.
- Kamm, R. D. und R. C. Schroter. "Is Airway-Closure Caused by A Liquid-Film Instability?" Respiration Physiology 75.2 (1989): 141-56.
- Kataoka, I., M. Ishii, und K. Mishima. "Generation and Size Distribution of Droplet in Annular 2-Phase Flow." Journal of Fluids Engineering-Transactions of the Asme 105.2 (1983): 230-
- Kim, C. S., et al. "Assessment of regional deposition of inhaled particles in human lungs by serial bolus delivery method." Journal of Applied Physiology 81.5 (1996): 2203-13.
- King, D. M., et al. "Bulk shear viscosities of endogenous and exogenous lung surfactants." American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology 282.2 (2002): L277-L284.
- Koblinger, L. und W. Hofmann. "Analysis of Human Lung Morphometric Data for Stochastic Aerosol Deposition Calculations." Physics in Medicine and Biology 30.6 (1985): 541-56.
- Koblinger, L. und W. Hofmann. "Stochastic Morphological Model of the Rat Lung." The Anatomical Record 221 (1988): 533-39.
- Koblinger, L. und W. Hofmann. "Monte-Carlo Modeling of Aerosol Deposition in Human Lungs .1. Simulation of Particle Transport in A Stochastic Lung Structure." Journal of Aerosol Science 21.5 (1990): 661-74.
- Koch, W. "Über Die Koagulation Von Aerosolen Und Ihre Bedeutung Für Umwelt Und Verfahrenstechnik." Habilitation. Fraunhofer-Institut für Toxikologie und Aerosolforschung, 1994.
- Kohlhäufel, M., et al. "Detection of impaired intrapulmonary convective mixing by aerosol bolus dispersion in patients with emphysema." European journal of medical research 2.3 (1997): 121-28.
- Kohlhäufel, M., et al. "Noninvasive Diagnosis of Emphysema - Aerosol Morphometry and Aerosol Bolus Dispersion in comparison to HRCT." Americal Journal of Respiratory and Critical Care Medicine 160 (1999): 913-18.
- Konietzko, N. und H. Fabel. Weißbuch Lunge 2005: Defizite, Zukunftsperspektiven, Forschungsansätze. Die Lunge Und Ihre Erkrankungen: Zur Lage und Zukunft der Pneumologie in Deutschland. 3. Auflage. Stuttgart: Thieme Verlag, 2005.
- König, P. und A. Lipp. "Anatomie Und Physiologie." Lehrbuch für Forschungstaucher. 5. Auflage 2007.
- Larsson, P., et al. "Surfactant protein A and albumin in particles in exhaled air." Respiratory Medicine 106 (2012): 197-204.

- Lehnigk, B., et al. "Die nichtinvasive Bestimmung der Dimensionen peripherer Lungenstrukturen mittels Aerosolmorphometrie: Kenntnisstand und Perspektiven." Pneumologie 55 (2001): 279-88.
- Lehnigk, B., et al. "Aerosol-derived airway morphometry (ADAM) in patients with lung emphysema diagnosed by computed tomography - Reproducibility, diagnostic information and modelling." European journal of medical research 12.2 (2007): 74-83.
- Lhuissier, H. und E. Villermaux. "Destabilization of flapping sheets: The surprising analogue of soap films." Comptes Rendus Mecanique 337.6-7 (2009): 469-80.
- Liu , Y. und P. H. Daum. "The effect of refractive index on size distributions and light scattering coefficients derived from optical particle counters." Journal of Aerosol Science 31.8 (2000): 945-57.
- Lopez, A. D. und C. C. Murray. "The Global Burden of Disease, 1990-2020." Nature Medicine 4.11 (1998): 1241-43.
- Lungenärzte im Netz. COPD / Kosten. <http://www.lungenaerzte-im-netz.de/lin/show.php?id=36&nodeid=,02.10.2012>.
- Macklem, P. T., D. F. Proctor, and J. C. Hogg. "Stability of Peripheral Airways." Respiration Physiology 8.2 (1970): 191-&.
- Macklem, P. T. und D. Eidelman. "Reexamination of the Elastic Properties of Emphysematous Lungs." Respiration 57.3 (1990): 187-92.
- Macklem, P. T. "Therapeutic implications of the pathophysiology of COPD." European Respiratory Journal 35.3 (2010): 676-80.
- Majumdar, A. und I. Mezic. "Stability regimes of thin liquid films." Microscale Thermophysical Engineering 2.3 (1998): 203-13.
- Malashenko, A., A. Tsuda, und S. Haber. "Propagation and Breakup of Liquid Menisci and Aerosol Generation in Small Airways." Journal of Aerosol Medicine and Pulmonary Drug Delivery 22.4 (2009): 341-53.
- Manev, E. D. und A. V. Nguyen. "Critical thickness of microscopic thin liquid films." Advances in Colloid and Interface Science 114 (2005): 133-46.
- Martonen, T. B., J. A. Rosati, und K. K. Isaacs. "Modeling Deposition of Inhaled Particles." Aerosols Handbook. Hrsg. L. S. Ruzer and N. H. Harley. Boca Raton: CRC Press, 2005. 113-15.
- Mccarthy, D. S., et al. "Measurement of "Closing Volume" As A Simple and Sensitive Test for Early Detection of Small Airway Disease." American Journal of Medicine 52.6 (1972): 747-753.

- McDonough, J. E., et al. "Small-airway Obstruction and Emphysema in Chronic Obstructive Pulmonary Disease." New England Journal of Medicine 365.17 (2011): 1567-75.
- Milic-Emili, J., R. Torchio, und E. D'Angelo. "Closing volume: a reappraisal (1967-2007)." European Journal of Applied Physiology 99.6 (2007): 567-83.
- Montuschi, P. "Review: Analysis of exhaled breath condensate in respiratory medicine: methodological aspects and potential clinical applications." Therapeutic Advances in Respiratory Disease 1 (2007): 5-23.
- Morawska, L., et al. "Size distribution and sites of origin of droplets expelled from the human respiratory tract during expiratory activities." Journal of Aerosol Science 40.3 (2009): 256-69.
- Murray, C. J. L. und A. D. Lopez. Global Burden of Disease. A Comprehensive Assessment of Mortality and Disability From Diseases, Injuries, and Risk Factors in 1990 and Projected to 2020. Cambridge: Harvard University Press, 1996.
- Nicas, M., W. W. Nazaroff, und A. Hubbard. "Toward understanding the risk of secondary airborne infection: Emission of respirable pathogens." Journal of Occupational and Environmental Hygiene 2.3 (2005): 143-54.
- Niewöehner, D. E., J. Kleinerm, und D. B. Rice. "Pathologic-Changes in Peripheral Airways of Young Cigarette Smokers." New England Journal of Medicine 291.15 (1974): 755-58.
- Notter, R. H. Lung Surfactants - Basis Science and Clinical Applications. Hrsg. C. Lenfant. New York, Basel: Marcel Dekker, 2000.
- Nowak, D., et al. "Krankheitskosten von COPD in Deutschland." Pneumologie 58.12 (2004): 837-44.
- Nowak, D. "Arbeits- und Umweltbedingte Lungen- Und Atemwegserkrankungen." Springer Lexikon Diagnose & Therapie. Berlin, Heidelberg: Springer, 2006. 1203-12.
- Ochs, M., et al. "The number of alveoli in the human lung." American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine 169.1 (2004): 120-24.
- Ochs, M. und E. R. Weibel. "Functional Design of Human Lung for Gas Exchange." Fishman's pulmonary diseases and disorders. Hrsg. A. P. Fishman et al. 4. Auflage, New York: McGraw-Hill, 2008. 23-69.
- Otis, D. R., et al. "Role of pulmonary surfactant in airway closure: a computational study." Journal of Applied Physiology 75.3 (1993): 1323-33.
- Otis, D. R., et al. "Airway closure and reopening assessed by the alveolar capsule oscillation technique." Journal of Applied Physiology 80.6 (1996): 2077-84.

- Papineni, R. S. und F. S. Rosenthal. "The size distribution of droplets in the exhaled breath of healthy human subjects." Journal of Aerosol Medicine-Deposition Clearance and Effects in the Lung 10.2 (1996): 105-16.
- Park, S. S. und A. S. Wexler. "Particle Deposition in the Pulmonary Region of the Human Lung: A Semi-Empirical Model of Single Breath Transport and Deposition." Journal of Aerosol Science 32.2 (2007): 228-45.
- Petty, T. L., G. W. Silvers, und R. E. Stanford. "Mild Emphysema is Associated with Reduced Elastic Recoil and Increased Lung Size but not with Air-Flow Limitation." AMERICAN REVIEW OF RESPIRATORY DISEASE 136.4 (1987): 867-71.
- Piirilä, P. und A. R. A. Oviärvi. "Crackles: Recording, analysis and clinical significance." European Respiratory Journal 8.12 (1995): 2139-48.
- Piirilä, P., et al. "Crackles in Patients with Fibrosing Alveolitis, Bronchiectasis, COPD, and Heart-Failure." Chest 99.5 (1991): 1076-83.
- Pinnick, R. G., J. D. Pendleton, und G. Videon. "Response Characteristics of the particle measuring systems active scattering aerosol spectrometer probes." Aerosol Science and Technology 33 (2000): 334-52.
- Pison, U., R. Herold, und S. Schürch. "The pulmonary surfactant system: biological functions, components, physicochemical properties and alterations during lung disease." Colloids and Surfaces - A: Physicochemical and Engineering Aspects 114 (1996): 165-84.
- Popov, T. A., et al. "Evaluation of a simple, potentially individual device for exhaled breath temperature measurement." Respiratory Medicine 101 (2007): 2044-50.
- Quirk, J. D., et al. "In Vivo Detection of Acinar Microstructural Changes in Early Emphysema with ³He Lung Morphometry." Radiology 260.3 (2011): 866-74.
- Raabe, O. G., Yeh, H. C., Schum, G. M., und Phalen, R. F. Tracheobronchial Geometry: Human, Dog, Rat, Hamster. Bericht. 1976.
- Radford, E. P. "Static Mechanical Properties of Mammalian Lungs." Handbook of physiology. Hrsg. W. O. Fenn und H. Rahn. Washington: Americal Physiological Society, 1964.
- Rehm, H. und T. Letzel. Der Experimentator: Proteinbiochemie/ Proteomics. Hrsg. H. Rehm. Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag, 2009.
- Reichenberger, F., K. Mayer, und H. D. Walmrath. "Grundlagen Von Ventilation, Perfusion Und Diffusion." Intensivbuch Lunge - Von der Pathophysiologie zur Strategie der Intensivtherapie. Hrsg. T. Bein and M. Pfeifer. Berlin: Medizinisch Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, 2007.
- Reinke, N., et al. "Aerosol Generation by Bubble Collapse at Ocean Surfaces." Water, Air, and Soil Pollution 1 (2001): 333-40.

- Rennard, S. I., et al. "Estimation of Volume of Epithelial Lining Fluid Recovered by Lavage Using Urea As Marker of Dilution." Journal of Applied Physiology 60.2 (1986): 532-38.
- Rosenthal, F. S. "A Model for Determining Alveolar and Small Airway Dimensions from Aerosol Recovery Data." Journal of Applied Physiology 58.2 (1985): 582-91.
- Rosenthal, F. S. "Lung Structure Parameters Estimated from Modeling Aerosol Deposition in Isolated Dog Lungs." Journal of Applied Physiology 67.5 (1989): 2014-25.
- Rosenthal, F. S. "Aerosol deposition and dispersion characterize lung injury in a canine model of emphysema." Journal of Applied Physiology 78.4 (1995): 1585-95.
- Rosias, P. P., et al. "Biomarker reproducibility in exhaled breath condensate collected with different condensers." European Respiratory Journal 31.5 (2008): 934-42. 162
- Ruckenstein, E. and R. K. Jain. "Spontaneous Rupture of Thin Liquid-Films." Journal of the Chemical Society-Faraday Transactions 70 (1974): 132-47.
- Ruff, F. "Effects of age and posture on closing volume." Scandinavian Journal of Respiratory Diseases Supplementum 85 (1974): 190-200.
- Russell, L. M. und E. G. Singh. "Submicron salt particle production in bubble bursting." Aerosol Science and Technology 40.9 (2006): 664-71.
- Rutgers, S. R., et al. "Markers of Active Airway Inflammation and Remodelling in Chronic Obstructive Pulmonary Disease." Clinical and Experimental Allergy 31.2 (2001): 193-205.
- Salmon, R. B., et al. "Human-Lung Pressure-Volume Relationships - Alveolar Collapse and Airway-Closure." Journal of Applied Physiology 51.2 (1981): 353-62.
- Sapoval, B., M. Filoche, und E. R. Weibel. "Smaller is better - but not too small: A Physical Scale for the Design of the Mammalian Pulmonary Acinus." Proceedings of the National Academy of Sciences, USA 99.16 (2002): 10411-16.
- Scheideler, L., et al. "Detection of Nonvolatile Macromolecules in Exhaled Breath: A Possible Diagnostic Tool?" AMERICAN REVIEW OF RESPIRATORY DISEASE **148.3** (21993): 778-84.
- Scheludko, A. "Certain particulars of foam layers. II. Kinetic stability, critical thickness and equilibrium thickness." Proceedings Koninklijke Nederlandse Akademie van Wetenschappen, Series B (Physical Sciences) 65.1 (1962): 87-98.
- Schlichting, H. und K. Gersten. "Grenzschicht Theorie." Hrsg. H. Schlichting and K. Gersten. 8. Ausgabe Berlin: Springer, 1997. 701-30.

- Schulz, H., G. Eder, und J. Heyder. "Lung volume is a determinant of aerosol bolus dispersion." Journal of Aerosol Medicine-Deposition Clearance and Effects in the Lung 16.3 (2003): 255-62.
- Schwarz, K. "Anreicherung Und Abscheidung Von Partikeln Im Mikron- Und Submikronbereich." Diplomarbeit. Technische Universität Bergakademie Freiberg, 2007.
- Schwarz, K., et al. A: "Exhaled Breath Particles – a Biomarker for Detection of Lung Disease?" 17th Congress of the International Society for Aerosols in Medicine, Monterey, Kalifornien, USA, 10.-14.05.2009. Journal of Aerosol Medicine and Pulmonary Drug Delivery 22.2 (2009): 180.
- Schwarz, K., et al. B: "Exhaled Breath Particles – a Biomarker for Detection of Lung Disease?" European Aerosol Conference of the Association for Aerosol Research, Karlsruhe, Deutschland, 6.-11.09. 2009. Extended Abstract.
- Schwarz, K., J. Hohlfeld, W. Koch C: "Exhaled breath particles – a biomarker for detection of lung disease?" 28th Annual Conference of the American Association for Aerosol Research, Minneapolis, MN, USA, 26. – 30.10 2009.
- Schwarz, K., et al. A: "Characterization of Exhaled Particles from the Healthy Human Lung - A Systematic Analysis in Relation to Pulmonary Function Variables." Journal of Aerosol Medicine and Pulmonary Drug Delivery 23.6 (2010): 371-79.
- Schwarz, K., et al. B: "Investigations into the mechanism of droplet generation in the human lung." International Aerosol Conference 2010, Helsinki, Finnland, 29.8–03.09 2010.
- Schwarz, K., et al. A: "Verfahren zur Analyse der Ausatemluft". Patentanmeldung. 17.06.2011.
- Schwarz, K., J. Hohlfeld und W. Koch. B: "Single Breath Particle Size Characterization – a Technique for Detection of Alterations in Small Airway Physiology?" 18th Congress of International Society for Aerosols in Medicine. Rotterdam, Niederlande, 18.-22.06. 2011. Journal of Aerosol Medicine and Pulmonary Drug Delivery 24: 8
- Schwarz, K., H. Biller, J. Hohlfeld und W. Koch. C: "Physical breath aerosol characterization for particle-based pulmonary diagnostics." 18th Congress of International Society for Aerosols in Medicine. Rotterdam, Niederlande, 18.-22.06. 2011. Journal of Aerosol Medicine and Pulmonary Drug Delivery 24: A-61
- Schwarz, K., J. Hohlfeld und W. Koch. D: " Der Einfluss der Gravitation auf das Partikelgrößenspektrum endogen generierter exhalierter Partikel." Workshop „Gesundheitsforschung im Raumfahrtprogramm“ des Deutschen Zentrums für Luft- und Raumfahrt und der Deutschen Sporthochschule Köln, Köln, Deutschland, 27.-28.09.2011.

- Schwarz, K., H. Biller, J. Hohlfeld und W. Koch. "Single breath particle characterization to detect small airway alterations." American Thoracic Society International Conference 2012, San Francisco, Kalifornien, USA, 18.–23.05.2012. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine 185: A5748
- Schwarz et al., "Untersuchung des Einflusses der Gravitation auf den exhalieren Anzahlstrom von in der Lunge generierten endogenen Aerosolpartikeln." Abschlussbericht eines von der DLR geförderten Vorhabens (FKZ 50WB0827) (2010).
- Schwarz et al. C: "Einfluss der Gravitation auf die Eigenschaften endogen generierter exhalierter Partikel bei gesunden Rauchern und Probanden mit milder COPD-Erkrankung im Vergleich zu Gesunden." Abschlussbericht eines von der DLR geförderten Vorhabens (FKZ 50WB1157) (2013).
- Scichilone, N., et al. "The role of small airways in monitoring the response to asthma treatment: what is beyond FEV₁?" Allergy 64.11 (2009): 1563-69.
- Seume, J., et al. "Diagnostik und Verlaufskontrolle von Lungenerkrankungen anhand exhalierter Aerosole." Forschungsantrag an die Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG) für die Gewährung einer Sachbeihilfe (2006).
- Sharp, D. H. "An Overview of Rayleigh-Taylor Instability." Physica D 12.1-3 (1984): 3-18.
- Shaw, R. J., et al. "The role of small airways in lung disease." Respiratory Medicine 96.2 (2002): 67-80.
- Siegenthaler, W. und H. E. Blum. "Lunge Und Atmung." 2006. 752-63.
- Simulescu, V., J. Angarska, und E. Manev. "Drainage and critical thickness of foam films from aqueous solutions of mixed nonionic surfactants." Colloids and Surfaces A-Physicochemical and Engineering Aspects 319.1-3 (2008): 21-28.
- Stahlhofen, W., G. Rudolf, und A. C. James. "Intercomparison of Experimental Regional Aerosol Deposition Data." Journal of Aerosol Medicine 2.3 (1989): 285-308.
- Stahlhofen, W., G. Rudolph, and A. C. James. "Intercomparison of Experimental Regional Aerosol Deposition Data." Journal of Aerosol Medicine 2.3 (1989): 285-308.
- Stenton, S. C., et al. "The Value of Questionnaires and Spirometry in Asthma Surveillance Programmes in the Workplace." Occupational Medicine 43 (1993): 203-06.
- Stephens, R. H., A. R. Benjamin, und D. V. Walters. "Volume and protein concentration of epithelial lining liquid in perfused in situ postnatal sheep lungs." Journal of Applied Physiology 80.6 (1996): 1911-920.
- Sturm, R., E. Pawlak, und W. Hofmann. "Monte-Carlo-Modell der Aerosolbolusdispersion in der menschlichen Lunge - Teil 1 Theoretische Modellbeschreibung und Anwendung." Zeitschrift für Medizinische Physik 17.2 (2007): 127-35.

- Sunyer, J., et al. "Lung Function Decline, Chronic Bronchitis, and Occupational Exposures in Young Adults." American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine 172.9 (2005): 1139-45.
- Taskar, V., et al. "Surfactant dysfunction makes lungs vulnerable to repetitive collapse and reexpansion." American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine 155 (1997): 313-20.
- Taulbee, D. B., C. P. Yu, und J. Heyder. "Aerosol Transport in the Human Lung from Analysis of Single Breaths." Journal of Applied Physiology 44 (1978): 803-12.
- Thews, G., E. Mutschler und P. Vaupel: Anatomie, Physiologie, Pathophysiologie des Menschen. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, 6. Auflage, Stuttgart, 2007.
- Thomas, C. "Anatomie." 3. Atmungsorgane. Hrsg. C. Thomas, G. Gebhart, and P. von Wichert. Grundlagen der klassisschen Medizin: Anatomie, Physiologie, Pathologie, Mikrobiologie, Klinik. Stuttgart: F.K. Schattauer Verlagsgesellschaft, 1996.
- Thurlbec, W. M. "Small Airways Disease." Human Pathology 4.2 (1973): 150-52.
- Tjahjadi, M., H. A. Stone, und J. M. Ottino. "Satellite and Subsatellite Formation in Capillary Breakup." Journal of Fluid Mechanics 243 (1992): 297-317.
- Tsuda, A., J. P. Butler, und J. J. Fredberg. "Effects of Alveolated Duct Structure on Aerosol Kinetics. II. Gravitational Sedimentation and Inertial Impaction." Journal of Applied Physiology 76.6 (1994): 2510-16.
- Tsuda, A., F. S. Henry, and J. P. Butler. "Gas and aerosol mixing in the acinus." Respiratory Physiology & Neurobiology 163.1-3 (2008): 139-49.
- Ulmer, W. T., et al. Die Lungenfunktion - Methodik Und Klinische Anwendung. 7. Auflage Stuttgart, New York: Thieme Verlag, 2003.
- Valkovska, D. S., K. D. Danov, und I. B. Ivanov. "Stability of draining plane-parallel films containing surfactants." Advances in Colloid and Interface Science 96.1-3 (2002): 101-29.
- Verbanck, S., et al. A: "Saline aerosol bolus dispersion. I. The effect of acinar airway alteration." Journal of Applied Physiology 90.5 (2001): 1754-62.
- Verbanck, S., et al. B: "Saline aerosol bolus dispersion. II. The effect of conductive airway alteration." Journal of Applied Physiology 90.5 (2001): 1763-69.
- Verkman, A. S. "Lung disease in cystic fibrosis, is airway surface liquid composition abnormal? " American Journal of Physiology - Lung Cellular and Molecular Physiology 281 (2001): L306-L308.
- Vogt, P. und M. Rüegger. "Berufsbedingte Krankheiten der Atemwege." Schweiz Med Forum 27 (2002): 647-54.

- Vrij, A. und J. Th. G. Overbeek. "Rupture of Thin Liquid Films Due to Spontaneous Fluctuations in Thickness." Journal of the American Chemical Society 90.12 (1968): 3074-78.
- Walters, D. V. "Lung lining liquid - The hidden depths - The 5th Nils W Svenningsen Memorial Lecture." Biology of the Neonate 81 (2002): 2-5.
- Wang, C. S. "Gravitational deposition of particles from laminar flows in inclined channels." Journal of Aerosol Science 6.191 (1975): 204.
- Watanabe, W., et al. "Why inhaling salt water changes what we exhale." Journal of Colloid and Interface Science 307.1 (2007): 71-78.
- Weber, C. "Zum Zerfall eines Flüssigkeitsstrahls." Zeitschrift für Angewandte Mathematik und Mechanik 11 (1931): 136-54.
- Weibel, E. R. Morphometry of the Human Lung. Springer-Verlag, Berlin, 1963.
- Weibel, E.R. "Morphometry of the human lung - state of the art after two decades." Bulletin Europeen de Physiopathologie Respiratoire-Clinical Respiratory Physiology 15.5 (1979): 999-1013.
- Weibel, E. R., B. Sapoval, und M. Filoche. "Design of peripheral airways for efficient gas exchange." Respiratory Physiology & Neurobiology 148.1-2 (2005): 3-21.
- Wiemer, K. "Atemkondensatmessung, eine Möglichkeit der nicht-invasiven biochemischen Lungenfunktionsanalytik." BGFA-Info 1 (2002): 15-18
- Wikipedia. Freistrahl. nach: Schlichting, H. und Gersten, K.: Grenzschicht-Theorie, Springer-Verlag, 9. Auflage, 1997. 15.03.2011.
- Wikipedia. Lunge. nach: Thews, G.: Anatomie, Physiologie, Pathophysiologie des Menschen. Wissenschaftliche Verlags-Gesellschaft, Stuttgart 2007. 15.07.2012
- Williams, O. W., et al. "Airway mucus - From production to secretion." American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology 34.5 (2006): 527-36.
- Workum, P., et al. "The Prevalence and Character of Crackles (Rales) in Young-Women Without Significant Lung-Disease." American Review of Respiratory Disease 126.5 (1982): 921-23.
- Wright, R. R. "Bronchial Atrophy and Collapse in Chronic Obstructive Pulmonary Emphysema." American Journal of Pathology 37.1 (1960): 63-77.
- Wu, D., D. Guillemin, und A. W. Marshall. "A modeling basis for predicting the initial sprinkler spray." Fire Safety Journal 42 (2007): 283-94.
- Yablonskiy, D. A., et al. "Quantification of lung microstructure with hyperpolarized He-3 diffusion MRI." Journal of Applied Physiology 107.4 (2009): 1258-65.

- Yeh, H. C., R. F. Phalen, und O. G. Raabe. "Factors Influencing Deposition of Inhaled Particles." Environmental Health Perspectives 15 (1976): 147-56.
- Yeh, H. C., G. M. Schum, und M. T. Duggan. "Anatomic Models of the Tracheobronchial and Pulmonary Regions of the Rat." Anatomical Record 195.3 (1979): 483-92.
- Yeh, H. C. und G. M. Schum. "Models of Human-Lung Airways and Their Application to Inhaled Particle Deposition." Bulletin of Mathematical Biology 42.3 (1980): 461-80.
- Young, A. C. und C. J. Martin. "The Sequence of Lobar Emptying in Man." Respiration Physiology 1 (1966): 372-81.
- Zeman, K. L. und W. D. Bennett. "Measuring Alveolar Dimensions at Total Lung Capacity by Aerosol-Derived Airway Morphometry." Journal of Aerosol Medicine-Deposition Clearance and Effects in the Lung 8.2 (1995): 135-47.

10 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 3.1: Lungenvolumina (mittels Bodyplethysmographie erfassbar)	14
Abbildung 3.2: Modell der menschlichen Lunge mit den einzelnen aufeinander folgenden Lungenabschnitten und dem Verzweigungsmuster der Atemwegsstrukturen nach Weibel, modifiziert nach Weibel (1963) und Yeh und Schum (1980).....	15
Abbildung 4.1: Gesamt-Abscheideeffizienz im menschlichen Respirationstrakt bei normaler Mundatmung für Kugeln mit der Standarddichte von 1000 kg/m ³ (aus Heyder, 2004, S. 316)..	22
Abbildung 4.2: Abscheideeffizienz in den unterschiedlichen Regionen des menschlichen Respirationstrakt bei normaler Mundatmung für Kugeln mit der Standarddichte von 1000 kg/m ³ ermittelt über das ICRP-Modell (rot: alveolärer Bereich, blau: unterer Bronchialbereich, orange: oberer Bronchialbereich, grün: extrathorakaler Bereich) (aus Heyder, 2004, S. 316).....	23
Abbildung 5.1: Experimenteller Aufbau für die zeitlich hoch aufgelöste, simultane Messung der Partikelkonzentration, Partikelgrößenverteilung und Atemflussraten über den Exhalationsvorgang.....	28
Abbildung 5.2: Aufbau des atemwasserdampfbasierten Kondensationskernzählers (modifiziert nach Hohlfeld et al., 2009).	29
Abbildung 5.3: Kritische Tröpfchengröße in Abhängigkeit der im Exhalatstrom vorliegenden relativen Feuchte und des Sättigungsverhältnisses nach der Expansion.	31
Abbildung 5.4: Links: Notwendige Expansionsverhältnisse für die Düse für die Realisierung unterschiedlicher Übersättigungen in Abhängigkeit der im Exhalat vorliegenden relativen Feuchte. Wachstumsdauer der aktivierten Partikel in Abhängigkeit von der im Exhalatstrom vorliegenden Feuchte und des Sättigungsverhältnisses nach der Expansion.	32
Abbildung 5.5: Ausbreitungsprofil eines axialsymmetrischen turbulenten Freistrahls (aus Wikipedia: Freistrah, 2012).....	34
Abbildung 5.6: Links: Geschwindigkeitsprofil (links) und Sättigungsprofil (rechts) in axialer Richtung nach dem Austritt aus der Expansionsdüse.	35
Abbildung 5.7: Links: Spektrum des Pulshöhenanalysators für ein monodisperses Testaerosol mit $d_p = 2 \mu\text{m}$ (weiß schraffierte Fläche), das Spektrum eines exhalierten Aerosols (graue Fläche) und das Spektrum eines exhalierten Aerosols nach adiabatischer Expansion und Kondensationswachstum (schwarze Fläche). Rechts: Prototyp des atemwasserdampfbasierten Kondensationskernzählers.....	35
Abbildung 5.8: Atemflussrate (obere Kurve) und zugehörige Partikelkonzentration (untere Kurve) für einen gesunden Probanden über mehrere vollständige Atemzüge für drei unterschiedliche Atemmuster (Variation des Atemzugvolumens).	40
Abbildung 5.9: Partikelanzahl pro Atemzug als Funktion des Ventilationsquotienten V_T/VC in Abhängigkeit der endexpiratorischen bzw. der endinspiratorischen Atemlage: normale endexpiratorische Atemlage entsprechend <i>FRC</i> , tiefe endexpiratorische Atemlage entsprechend <i>RV</i> und hohe endinspiratorische Atemlage entsprechend <i>TLC</i>	41
Abbildung 5.10: Über einen Atemzug zeitlich gemittelte normierte anzahlbezogene Partikelgrößenverteilung für einen gesunden Nichtraucher bei normaler Ruheatmung.	42

- Abbildung 5.11:** Zeitlich aufgelöster Verlauf der normierten anzahlbezogenen Größenverteilung der exhaliierten Partikel über einen individuellen Ausatemvorgang bei einem hohen Atemzugvolumen für eine exhaliierte Volumenfraktion $EV/V_T = 0.2, 0.4, 0.6$ und 0.8 43
- Abbildung 5.12:** Partikelanzahl pro Atemzug als Funktion des Ventilationsquotienten für einen gesunden Nichtraucher, einen gesunden Raucher und einen COPD-Patienten. Die unterschiedlichen Schattierungen innerhalb der Kurven repräsentieren die Messergebnisse aus drei Messungen und dienen der Veranschaulichung der Reproduzierbarkeit. 44
- Abbildung 5.13:** Partikelanzahl pro Atemzug bei einem Ventilationsquotienten $V_T/VC = 0.6$ und zugehöriger Wert des Exponenten der individuellen potenziellen Partikelanzahlfunktion in Abhängigkeit des Grades der Atemwegsobstruktion FEV_1/FVC für alle untersuchten Versuchspersonen (Gesunde Nichtraucher, gesunde Raucher und COPD-Patienten). 45
- Abbildung 5.14:** Partikelanzahl pro Atemzug bei einem Ventilationsquotienten $V_T/VC = 0.6$ in Abhängigkeit der individuellen normierten Atemlage FRC/TLC für alle untersuchten Versuchspersonen (Gesunde Nichtraucher/Raucher und COPD-Patienten). 46
- Abbildung 5.15:** Links: Rechts: Veränderung von FEV_1 während der Methacholinprovokation und der spontanen Erholung eines Probanden mit allergischem Asthma, der Zeitpunkt 0 min entspricht dem Ende der Provokation. Links: Korrespondierende Partikelemissionsfunktion für den gleichen Probanden vor der Methacholinprovokation und zu drei unterschiedlichen Zeitpunkten nach dem Ende der Provokation. 46
- Abbildung 5.16:** Zeitlich hoch aufgelöster Verlauf der Partikelkonzentration im Exhalat über einen individuellen Exhalationsvorgang bei einem hohen Atemzugvolumen von 3.5 l für einen gesunden Nichtraucher (links) und einen COPD-Patienten (Stadium III) (rechts). 47
- Abbildung 5.17:** Normierte anzahlbezogene Partikelgrößenverteilung der exhaliierten Aerosole jeweils gemittelt über alle gesunden Versuchspersonen, COPD-Patienten und Personen mit allergischem Asthma. Die zu den Messpunkten zugehörigen vertikalen Fehlerbalken veranschaulichen die Standardabweichung der Dichtewerte innerhalb der Kollektive. 47
- Abbildung 5.18:** Zeitlich aufgelöster Verlauf der normierten anzahlbezogenen Größenverteilung der exhaliierten Partikel über einen individuellen Exhalationsvorgang bei einem hohen Atemzugvolumen für eine exhaliierte Volumenfraktion $EV/V_T = 0.2, 0.5$ und 0.8 für einen gesunden Nichtraucher (links oben), einen gesunden Raucher (rechts oben), einen Patienten mit milder COPD (links unten) und einen Patienten mit schwerer COPD (rechts unten). 48
- Abbildung 5.19:** Simultane Aufzeichnung der Gravitationsstärke, der Atemflussraten und der exhaliierten Partikelanzahlkonzentration für einen gesunden Nichtraucher während eines vollständigen Parabelmanövers. 50
- Abbildung 5.20:** Partikelanzahl pro Atemzug als Funktion des Ventilationsquotienten in Abhängigkeit der Gravitationsstärke für einen gesunden Nichtraucher. 50
- Abbildung 5.21:** Normierte anzahlbezogene Partikelgrößenverteilung für das Kollektiv der gesunden Versuchspersonen bei normaler Ruheatmung unter Mikrogravitation und unter normaler Erdbeschleunigung. Die zu den Messpunkten zugehörigen vertikalen Fehlerbalken veranschaulichen die Standardabweichung der Dichtewerte für die Partikeldurchmesser. 51
- Abbildung 5.22:** Zeitlich aufgelöster Verlauf der normierten anzahlbezogenen Größenverteilung über einen individuellen Exhalationsvorgang ($Q_{ex} = 25\text{ l/min}$) bei einem hohen Atemzugvolumen für eine exhaliierte Volumenfraktion $EV/V_T = 0.2, 0.4, 0.6$ und 0.8 für einen gesunden Nichtraucher unter Mikrogravitation (links) und unter normaler Erdbeschleunigung (rechts). 52

Abbildung 5.23: Zeitlicher Verlauf der auf die jeweilige Partikelgesamtanzahl normierten einzelnen Korngrößenklassenfraktionen über den Exhalationsvorgang bei einem hohen Atemzugvolumen unter Mikrogravitation (links) und normaler Erdbeschleunigung (rechts).....	52
Abbildung 5.24: Aufbau einer Vorrichtung für die Sammlung von Atemkondensat (modifiziert nach Wiemer, 2002).....	54
Abbildung 5.25: Links: Neu entwickelte Abscheideeinheit für die lokalisierte Trägheitsabscheidung exhalierter Aerosole. Rechts: Schlitzdüse für die linienförmige Abscheidung (aus Schwarz, 2007).....	57
Abbildung 5.26: Ergebnisse der immunologischen HSA-Analyse abgeschiedener exhalierter Aerosole für zwei verschiedene Versuchspersonen über unterschiedliche Abscheidedauer sowie rechts neben den einzelnen Proben aufgetragen der zugehörigen Partikelanzahl.....	60
Abbildung 5.27: Optische Dichte für den immunologischen HSA-Nachweis als Funktion der Partikelanzahl mit zugehöriger linearer Regression. Der Regressionskoeffizient beträgt 0.87...61	
Abbildung 6.1: Tröpfchenbildung in der peripheren Lungenstruktur durch Wiedereröffnung verschlossener terminaler Atemwegsstrukturen (aus Schwarz et al., 2009 C).....	69
Abbildung 6.2: Struktureller Kollaps eines Atemweges mit Bildung einer Flüssigkeitsbrücke infolge oberflächenspannungsinduzierter Instabilitäten (aus Heil et al., 2008, S. 218).	71
Abbildung 6.3: Druck-Volumen-Beziehung einer explantierten Hundelunge für die Befüllung und Entleerung (aus Milic-Emili et al., 2007, S 569, adaptiert von Glaister et al., 1973).	72
Abbildung 6.4: Kritische Filmdicke des Surfactantfilms als Funktion der dynamischen Viskosität und der Oberflächenspannung in Abhängigkeit des Filmdurchmessers, d.h. der Atemwegsdimension.....	76
Abbildung 6.5: Zerfall eines in einem Ring aufgespannten dünnen Seifenfilms, der in der Mitte über eine feine Spitze aufgestochen wird (aus Lhuissier und Villermaux, 2009, S. 472).....	77
Abbildung 6.6: Ausdünnender Flüssigkeitsfilm, in dem infolge thermischer Fluktuationen Wellen mit der kritischen Wellenlänge λ_d induziert sind, kurz vor dem Zerfall (links) und unmittelbar nach dem Zerfall nach Erreichen der kritischen Amplitude (rechts).....	77
Abbildung 6.7: Tropfendurchmesser der beim Filmzerfall entstehenden Partikel als Funktion der dynamischen Viskosität und der Oberflächenspannung in Abhängigkeit des Filmdurchmessers.....	78
Abbildung 6.8: Oberer Tropfendurchmesser der beim Filmzerfall entstehenden Partikel als Funktion der dynamischen Viskosität und der Oberflächenspannung in Abhängigkeit des Kreisringradius R_b für einen Filmdurchmesser von 0.2 mm (links) und 1.0 mm (rechts).....	79
Abbildung 6.9: Modifiziertes, symmetrisches Lungenmodell nach Weibel (1963) und Yeh und Schum (1980) für das Breath Aerosol Modell mit Darstellung der sequentiellen Aufteilung der Atemwege und Alveolen. Rechts sind die für die Berechnungen verwendeten Dimensionen der Atemwegssegmente, sowie die Neigungs- und die Verzweigungswinkel für die einzelnen Generationen angegeben.	83
Abbildung 6.10: Vergleich der normierten anzahlbezogenen Größenverteilung theoretisch über das BA-Modell ermittelter Werte mit experimentell bestimmten Werten (Symbole) für eine Totkapazität von ca. 6.4 l in Abhängigkeit des Ventilationsquotienten (Inhalationsflussrate 30 l/min, Exhalationsflussrate 25 l/min).....	91

- Abbildung 6.11: Tropfengrößenabhängige Penetrationseffizienz während der Exhalation bei einer Flussrate von 25 l/min bei hohem Atemzugvolumen und einer frühen Aerosolentstehung während der Inhalation, d.h. des Transports der generierten Aerosole in die äußersten Generationen unter ausschließlicher Berücksichtigung der Sedimentation (links) bzw. Diffusion (rechts). 92
- Abbildung 6.12: Über das BA-Modell theoretisch ermittelte normierte anzahlbezogene Größenverteilung in Abhängigkeit des Entstehungsortes (links) und des Entstehungszeitpunktes (rechts) im Inhalationsintervall für ein mittleres Atemzugvolumen entsprechend $V_T/VC = 0.4$ (Inhalationsflussrate 30 l/min, Exhalationsflussrate 25 l/min)..... 93
- Abbildung 6.13: Lungenvolumina in Abhängigkeit des Schweregrades der COPD..... 94
- Abbildung 6.14: Über das BA-Modell theoretisch ermittelte normierte anzahlbezogene Größenverteilung in Abhängigkeit des Atemwegsdurchmessers in den Acini bzw. der Anzahl belüfteter Atemwegsstrukturen für ein hohes Atemzugvolumen entsprechend $V_T/VC = 0.6$ (Inhalationsflussrate 30 l/min, Exhalationsflussrate 25 l/min). 95
- Abbildung 7.1: Atemmuster für die zeitlich hoch aufgelöste Analyse der exhalierten Partikelgrößenverteilung für die experimentellen Untersuchungen der Testpersonen. 100
- Abbildung 7.2: Verlauf der Gesamt-Konzentration der exhalierten Partikel, sowie der Fraktion oberhalb 0.5 μm und unterhalb 0.5 μm über einen individuellen Exhalationsvorgang bei einem hohen Atemzugvolumen von 3.5 l für einen gesunden Nichtraucher (links) und einen COPD-Patienten (GOLD III) (rechts). 101
- Abbildung 7.3: Bolusdispersion der exhalierten Aerosole über den individuellen Ausatemvorgang für alle untersuchten Testpersonen, normiert auf die Totalkapazität. 102
- Abbildung 7.4: Zeitlich aufgelöster Verlauf des Partikelgrößenverhältnisses $N(> 0.5 \mu\text{m})/N_{\text{ges}}$ (rote Kurve) und der exhalierten Partikelkonzentration (schwarze Kurve) für einen gesunden Nichtraucher (links oben), einen gesunden Raucher (rechts oben), einen Patienten mit milder COPD (links unten) und einen Patienten mit schwerer COPD (rechts unten) für ein exhaliertes Volumen von 0.7 VC..... 103
- Abbildung 7.5: Verhältnis der Partikelanzahl $N(>0.5 \mu\text{m})$ zur Gesamtanzahl N_{ges} , gemittelt über den gesamten Exhalationsvorgang für die gesunden Nichtraucher, gesunden Raucher, COPD-Patienten und Asthmatiker als Funktion der Vitalkapazität VC..... 104
- Abbildung 7.6: Darstellung des Mittelwertes des normierten BAS_{Ex} -Index für die einzelnen Kollektive mit zugehöriger Standardabweichung (vertikale Fehlerbalken). 105
- Abbildung 7.7: Vergleich der mittels SBA-Modell theoretisch ermittelten Werte für den Partikelgrößenindex BAS mit den experimentell ermittelten Werten (rote Symbole) in Abhängigkeit von dem Ventilationsquotienten für einen gesunden Nichtraucher (Totalkapazität 6.4 l) (rote Kurve) mit Darstellung des zugehörigen theoretischen relevanten Atemwegsdurchmessers über der exhalierten Volumenfraktion (schwarze Kurven)..... 107
- Abbildung 7.8: Theoretisch mittels BAS-Modell ermittelte Werte für den Partikelgrößenindex BAS eines gesunden Nichtrauchers ($TLC = 6.4 \text{ l}$, $FRC/TLC = 52 \%$) (durchgehende rote Kurve) unter Variation der Atemlage (links) und des Atemwegsdurchmessers sowie entsprechend der Anzahl der Atemwege in den Acini (rechts), mit Darstellung der zugehörigen theoretischen relevanten Atemwegsdurchmesser (schwarze Kurven). 108

- Abbildung 7.9:** Theoretisch mittels SBA-Modell ermittelte Werte für den Partikelgrößenindex *BAS* eines gesunden Nichtraucher (*TLC* = 6.4 l) (rote Kurve) unter Variation der Atemwegsdurchmesser in den Acini und der Anzahl belüfteter Atemwegsstrukturen entsprechend unterschiedlicher Schweregrade der COPD mit Darstellung des zugehörigen theoretischen relevanten Atemwegsdurchmessers (schwarze Kurven). Die Symbole zeigen beispielhaft entsprechende experimentell ermittelte Werte für einen gesunden Nichtraucher (rote Kreise, *TLC* = 6.2 l) sowie links einen Patienten mit COPD I (*TLC* = 8.0 l) bzw. rechts einen Patienten mit COPD III (*TLC* = 8.5 l) mit vergleichbaren Werten für die Totalkapazität.109
- Abbildung 7.10:** Effektiver Atemwegsdurchmesser (*EAD*) für gesunde Probanden und Patienten mit unterschiedlichem Schweregrad eines Emphysems in Abhängigkeit von der Lungentiefe (aus Lehnigk et al., 2007, S. 78).....110
- Abbildung 7.11:** Theoretisch mittels SBA-Modell ermittelte Werte für den Partikelgrößenindex *BAS* eines gesunden Nichtrauchers (Totalkapazität 6.4 l) (rote Kurve) unter Variation der Atemflussraten für Inhalation und Exhalation mit Darstellung der zugehörigen relevanten Atemwegsdurchmesser (schwarze Kurven). Die Symbole zeigen beispielhaft zugehörige experimentell ermittelte Werte für einen gesunden Nichtraucher mit vergleichbarem Wert für die Totalkapazität.111
- Abbildung 7.12:** Theoretisch mittels SBA-Modell (rote Kurven) und beispielhaft experimentell ermittelte Werte (rote Symbole) für den Partikelgrößenindex *BAS* für einen gesunden Nichtraucher bei einer Totalkapazität der Lunge von 6.4 l im SBA-Modell bzw. 5.9 l im Experiment als Funktion des Ventilationsquotienten bzw. des absoluten Volumens. Die schwarzen Kurven zeigen die zugehörigen theoretisch ermittelten Werte für den relevanten Atemwegsdurchmesser.112
- Abbildung 7.13:** Theoretisch mittels SBA-Modell für den Partikelgrößenindex *BAS* bei einer *TLC* von 6.4 l (rote Kurven) und 9.0 l (hellrote Kurven) ermittelte Werte für einen gesunden Nichtraucher. Die roten Symbole zeigen beispielhaft die experimentellen Ergebnisse für einen Probanden mit COPD III bei einer *TLC* von 8.5 l und einer *VC* von 5.0 l als Funktion des Ventilationsquotienten bzw. des absoluten Volumens. Die schwarzen Kurven stellen die zugehörigen theoretisch ermittelten Werte für den relevanten Atemwegsdurchmesser dar...113

11 Tabellenverzeichnis

Tabelle 6.1: Durchschnittliche Lungenfunktionskenngößen der untersuchten Patientenkollektive, ermittelt über Bodyplethysmographie.....	93
---	-----------

12 Danksagung

Diese Arbeit ist im Rahmen meiner Tätigkeit als wissenschaftliche Mitarbeiterin am Fraunhofer Institut für Toxikologie und Experimentelle Medizin in Hannover in der Abteilung für Aerosoltechnologie unter der Leitung von Herrn Apl. Prof. Dr. rer. nat. Koch entstanden.

An dieser Stelle möchte ich mich bei den vielen Mitarbeitern des Instituts bedanken, die mir bei der Durchführung meiner Untersuchungen behilflich waren.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Apl. Prof. Dr. rer. nat. Wolfgang Koch für die hervorragende Betreuung und seine ständige Unterstützung, sowie die konstruktiven Diskussionen bei der Erstellung dieser Dissertationsschrift. Besonders möchte ich mich auch bei Herrn Prof. Dr. rer. nat. Alfred Weber für die Mitbetreuung der Promotion und die damit verbundenen Mühen bedanken. Mein besonderer Dank gilt auch Herrn Prof. Dr.-Ing. Thomas Turek für die Übernahme des Vorsitzes der Prüfungskommission und die gute Betreuung.

Insbesondere gilt mein Dank auch Herrn Prof. Dr. med. Jens Hohlfeld, der den Bereich der Atemwegsforschung am Fraunhofer ITEM leitet. Erst durch die ausgezeichnete Kooperation der beiden Abteilungen konnten die interdisziplinären Fragestellungen nach den Mechanismen der Aerosolentstehung und der diagnostischen Nutzbarkeit endogen generierten exhalierter Aerosole erfolgreich bearbeitet werden.

Herrn Prof. Dr. med. Tobias Welte, Direktor der Klinik für Pneumologie an der Medizinischen Hochschule Hannover, danke ich für die konstruktiven Gespräche und sehr hilfreichen Informationen zu den klinischen und anwendungsrelevanten Aspekten der Lungendiagnostik.

Mein ausdrücklicher Dank gilt auch den Projektpartnern im DFG-Verbundvorhaben „Diagnostik und Verlaufskontrolle von Lungenerkrankungen anhand exhalierter Aerosole“ am Institut für Turbomaschinen und Fluidodynamik der Leibniz Universität Hannover unter Leitung von Herrn Prof. Dr.-Ing. Jörg Seume und am Aerodynamischen Institut der RWTH Aachen unter Leitung von Prof. Dr.-Ing. Wolfgang Schröder für die Unterstützung und die fruchtbare Zusammenarbeit.

Insbesondere gilt mein Dank auch Herrn Dipl.-Ing. Horst Windt für die wertvolle Unterstützung bei der praktischen Umsetzung meiner Arbeit, insbesondere bei den experimentellen Aufbauten für die klinischen Untersuchungen. Besonders möchte ich mich bei den Herrn Dipl. Ings. Wilhelm Dunkhorst und Hubert Lödding bedanken, die mir jederzeit hilfreich zur Seite standen. Weiterhin möchte ich meinen Kollegen Herrn Dr. rer. nat. Gerhard Pohlmann, Frau Adeline Kongtso und Herrn Martin Stempfle für die Unterstützung bei den Arbeiten danken. Den Mitarbeitern der mechanischen Werkstatt des ITEM danke ich für ihr Engagement bei dem Bau der Geräte.

Ganz herzlich möchte ich auch den weiteren Mitarbeitern aus dem Bereich der Atemwegsforschung danken. Besonders hervorzuheben sind hier Frau Dr. med. Heike Biller, die mich von der medizinischen Seite her maßgeblich unterstützt hat, sowie Herr

Dr. rer. nat. Olaf Holz und Frau Bianca Lavae-Mokhtari. Weiterhin danke ich Frau Katrin Lür, Frau Angelika Adler-Schürmeyer, Frau Silvia Monden, Frau Karin Bonhagen und allen weiteren Mitarbeitern, die an der Umsetzung der klinischen Studien beteiligt waren, für die fachliche und freundschaftliche Unterstützung.

Mein besonderer Dank gilt allen Studienteilnehmern, die sich für die Untersuchungen zur Verfügung gestellt haben und so maßgeblich zur Erstellung dieser Dissertation beigetragen haben.

Herrn Dr. med. Martin Ellmann danke ich herzlich für das sorgfältige Korrekturlesen des Manuskripts.

Hannover, im September 2012

Katharina Schwarz