

TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Lehrstuhl für Allgemeinmedizin

Klinikum rechts der Isar

Direktor: Univ.-Prof. Dr. A. Schneider

**Diagnostische Wertigkeit der Messung von fraktioniertem
exhaliertem Stickstoffmonoxid (FE_{NO}) unter Berücksichtigung der
Analyse von spontanem Sputum bei Verdacht auf Asthma
bronchiale**

Johannes Nikolaus Schwarzbach

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin der Technischen Universität
München zur Erlangung des akademischen Grades eines

Doktors der Medizin

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. E. J. Rummeny

Prüfer der Dissertation:

1. Univ.-Prof. Dr. A. Schneider

2. apl. Prof. Dr. H. Hautmann

Die Dissertation wurde am 25.02.2015 bei der Technischen Universität München
eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 14.10.2015 angenommen.

Abkürzungsverzeichnis

AB	Aktiebolag (schwedische Aktiengesellschaft)
ACE	angiotensin converting enzyme
ANOVA	analysis of variance
ATS	American Thoracic Society
AUC	area under the curve
BHR	bronchiale Hyperreagibilität
BTPS	body temperature pressure saturated
COPD	Chronic Obstructive Pulmonary Disease
eNOS	endotheliale NO-Synthase
ERS	European Respiratory Society
et al.	et alii
FE _{NO}	fraktioniertes exhalierendes Stickstoffmonoxid
FEV ₁	expiratorische Einsekundenkapazität
FVC	forcierte Vitalkapazität
GA ² LEN	Global Allergie and Asthma European Network
GERD	gastroösophageale Refluxkrankheit
HHE	hypertensive Herzerkrankung
hPa	Hektopascal
ICC	Intra-Klassen-Korrelationskoeffizient
iNOS	induzierbare NO-Synthase
kPa	Kilopascal
l	Liter
LMU	Ludwig-Maximilians-Universität München
log	Logarithmus zur Basis 10
MAX	Maximum
mg	Milligramm
MIN	Minimum
ml	Milliliter
MW	Mittelwert

n	Anzahl
nNOS	neuronal NO-Synthase
NO	Stickstoffmonoxid
NOS	NO-Synthase
NPV	negativer Vorhersagewert
OAD	obstructive airway disease
o.p.B.	ohne pathologischen Befund
p	p-Wert
PC ₂₀	Methacholin-Konzentration, durch die der FEV ₁ -Wert um mehr als 20% gegenüber dem Ausgangswert abfällt
ppb	parts per billion
PPV	positiver Vorhersagewert
py	pack years
ρ	rho
RLF	relative Luftfeuchtigkeit
ROC	receiver operating characteristic
s	Sekunde
SD	standard deviation
WHO	World Health Organization
95% KI	95% Konfidenzintervall

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung.....	1
1.1. Bedeutung von Asthma bronchiale.....	1
1.2. Pathogenese von Asthma bronchiale.....	2
1.3. Diagnostik bei Verdacht auf Asthma bronchiale.....	3
1.4. Neue Methoden im Monitoring – FE _{NO} als Biomarker der ersten Wahl bei Asthma bronchiale?.....	5
1.4.1. Bildung und Funktion von NO in der Lunge.....	6
1.4.2. Zwei-Kompartiment-Modell.....	7
1.4.3. Mögliche Rolle von FE _{NO} in der Asthma-Diagnostik.....	8
1.5. Ökonomische Gesichtspunkte der FE _{NO} -Messung.....	8
1.6. Nutzen und Problematik der Sputumuntersuchung bei der Asthmadagnostik.....	9
1.7. Vergleich zweier FE _{NO} -Messgeräte.....	10
1.8. Reliabilität des tragbaren FE _{NO} -Geräts.....	11
1.9. Ziele der Studie.....	11
2. Material und Methoden.....	13
2.1. Studiendesign.....	13
2.2. Studienpopulation.....	15
2.2.1. Einschlusskriterien.....	15
2.2.2. Ausschlusskriterien.....	16
2.3. Diagnostik.....	17
2.3.1. FE _{NO} -Messung.....	17
2.3.2. Durchführung der FE _{NO} -Messungen.....	20
2.3.3. Zytologie von spontanem Sputum.....	21
2.3.4. standardisierter Fragebogen.....	21
2.3.5. Referenzstandard.....	22
2.3.6. Review der Diagnose Asthma bronchiale durch ein Expertengremium.....	24
2.4. Datenverarbeitung und Statistik.....	24
2.4.1. Datenerhebung und -verarbeitung.....	24
2.4.2. Fallzahlplanung.....	25
2.4.3. Statistische Methoden.....	26
3. Ergebnisse.....	29
3.1. Beschreibung der Studienpopulation.....	29
3.1.1. Alter und Geschlecht.....	29
3.1.2. Diagnosen.....	30
3.1.3. Alter und Geschlecht nach Diagnosen.....	31
3.1.4. Symptome nach Diagnosen.....	32
3.1.5. Raucher.....	34
3.1.6. Lungenfunktion nach Diagnosen.....	36
3.1.7. Auskultationsbefund.....	36

3.2.	Genauigkeit der FE _{NO} -Messung mit NIOX MINO®	37
3.2.1.	Wiederholungsmessung mit NIOX MINO®	37
3.2.2.	Übereinstimmung von NIOX MINO® und NIOX® Flex	42
3.3.	Diagnostischer Wert von FE _{NO} -Messung und Sputumzytologie.....	50
3.3.1.	Verteilung der FE _{NO} -Werte	50
3.3.2.	FE _{NO} -Werte nach Diagnosen.....	52
3.3.3.	Störfaktoren der FE _{NO} -Messung	54
3.3.4.	Sputumzytologie.....	54
3.3.5.	Diagnostischer Wert von FE _{NO} bei allen Patienten	57
3.3.6.	Sensitivitätsanalyse der Diagnostik	60
3.3.7.	Diagnostischer Wert von FE _{NO} in Abhängigkeit von spontanem Sputum	60
3.3.8.	Diagnostischer Wert von FE _{NO} und Sputum unter Ausschluss von Neutrophilie	63
3.3.9.	Diagnostischer Wert von FE _{NO} zur Erkennung von eosinophilem Asthma bronchiale.....	65
3.3.10.	Number needed to diagnose.....	67
4.	Diskussion.....	69
4.1.	Material und Methoden	69
4.1.1.	Patientenauswahl.....	69
4.1.2.	Referenzstandard.....	70
4.1.3.	Überprüfung der Referenzdiagnostik.....	73
4.1.4.	FE _{NO} -Messung	74
4.1.5.	Einschränkungen der Studie	76
4.2.	Diagnostische Genauigkeit von FE _{NO}	77
4.2.1.	Reproduzierbarkeit der FE _{NO} -Messung mit NIOX MINO®	77
4.2.2.	Übereinstimmung von NIOX MINO® mit NIOX® Flex	79
4.2.3.	Diagnostischer Wert der FE _{NO} -Messung unter Berücksichtigung der Sputumzytologie.....	83
4.3.	Ausblick	88
5.	Zusammenfassung	89
6.	Literaturverzeichnis	92
7.	Tabellarischer Anhang	103
8.	Danksagung.....	105

1. Einleitung

1.1. Bedeutung von Asthma bronchiale

Der Begriff „Asthma“ leitet sich von dem griechischen Verb „aazein“ ab, was „mit offenem Mund ausatmen“ oder „hecheln“ bedeutet. Die erste schriftliche Überlieferung dieses Begriffs liegt etwa 2700 Jahre zurück und findet sich in der Ilias von Homer. Im ersten Jahrhundert nach Christus lieferte der griechische Mediziner Aretaeus von Kappadokien eine sehr exakte und klare Beschreibung des Krankheitsbildes. Er definierte Asthma als Atemnot durch jegliche Art von körperlicher Anstrengung, betrachtete die Lunge zusammen mit Thorax und Zwerchfell als Orte des Geschehens und beschrieb eindrucksvoll die Symptome eines Asthma-Anfalls mit Dyspnoe, Orthopnoe, pausenlosem Husten, nächtlichem Höhepunkt und zunehmendem Auswurf zum Ende des Anfalls hin (Marketos and Ballas, 1982). Seit dieser frühen Beschreibung in der griechischen Antike hat das Asthma bronchiale bis heute eine ungebrochen große Bedeutung behalten, sowohl im Hinblick auf die Zahl der Erkrankten, als auch auf deren Belastung durch die Krankheit.

So litten laut Masoli et al. Mitte des letzten Jahrzehnts 300 Millionen Menschen weltweit an Asthma (Masoli et al., 2004). Ihren Schätzungen zufolge könnten im Jahr 2025 sogar bis zu 400 Millionen Asthmatiker auf der Erde leben. Ein zusätzlicher Aspekt ihrer Arbeit veranschaulicht die Schwere der Krankheit, dass nämlich der Verlust an behinderungsbereinigten Lebensjahren durch Asthma vergleichbar ist mit dem von schweren chronischen Erkrankungen wie Diabetes, Leberzirrhose und Schizophrenie. Die Verteilung der Erkrankung ist jedoch nicht überall auf der Erde gleich. So kommt eine von der WHO weltweit durchgeführte Untersuchung zur Gesundheit von Menschen zu dem Schluss, dass die höchste Prävalenz in hochgradig entwickelten Ländern zu beobachten sei (To et al., 2012).

Demzufolge leiden in Deutschland entsprechend viele Personen an Asthma. Die 2008-2009 in Europa durchgeführte GA²LEN-Untersuchung legte für Deutschland Zahlen mit einer Spanne der Prävalenz von 6 bis 10% vor (Jarvis et al., 2012). Man kann anhand dieser Werte davon ausgehen, dass die Asthma-Prävalenz in den letzten Jahren, selbst in einem seit langem urbanisierten Land wie Deutschland, weiter zugenommen hat. Hoffmann et al. und Stock et al. hatten für Anfang des letzten Jahrzehnts noch Werte

von etwa 6% proklamiert (Hoffmann 2007; Stock et al., 2005). Man muss allerdings bedenken, dass sicher Ärzte über die Jahre stärker gegenüber der Krankheit sensibilisiert sind und sie deshalb öfter diagnostizieren. Unter anderem aus diesem Grund sollen die dargestellten Prävalenzen nur einen Eindruck von der Größenordnung der Krankheit liefern. Generell liegt zudem die Prävalenz unter Kindern deutlich höher als bei Erwachsenen (Tattersfield et al., 2002). Um der hohen Prävalenz und der großen Bedeutung der Erkrankung Rechnung zu tragen, möchte man möglichst sichere, aber dabei gleichzeitig einfache, bequeme und kostengünstige diagnostische Tests etablieren. Der Schwerpunkt der Diagnostik von Asthma bronchiale liegt derzeit in der Erfassung der bronchialen Obstruktion und der bronchialen Hyperreagibilität. Je nach Schweregrad stellen die Beurteilung der Spirometrie mit anschließender Bronchospasmyse oder die Erfassung der bronchialen Hyperreagibilität mittels Methacholin-Provokation den aktuellen Standard dar. Zum Einen erfordern diese Verfahren jedoch in Deutschland in der Regel das Vorhandensein eines Bodyplethysmographen, da sich hier aufgrund der Erfassung von mit arbeitsunabhängigen Parametern dessen Einsatz fest etabliert hat. Zum Anderen ist die Methacholin-Provokation für die Patienten unangenehm und birgt das Risiko eines schweren Bronchospasmus.

Möglicherweise könnte die Messung der bronchialen Entzündung, die bei Asthma bronchiale eine ebenso wichtige Komponente darstellt, zu einer Vereinfachung in der Diagnostik führen. In den letzten Jahren hat sich in diesem Zusammenhang das exhalierete fraktionierte Stickstoffmonoxid (FE_{NO}) als indirekter Marker der bronchialen Entzündung vor allem für die Therapiekontrolle bei Asthma bronchiale etabliert. Daneben besteht die Möglichkeit, mittels zytologischer Sputumanalyse die Inflammation der Atemwege direkt sichtbar zu machen. Beide Untersuchungen bedürfen einer geringen technischen Ausstattung und sind zudem ohne jegliches Komplikationsrisiko durchzuführen. Um die Funktionsweise dieser beiden Instrumente zu veranschaulichen, sollte man einen Blick auf die Pathomechanismen der vielschichtigen Erkrankung Asthma bronchiale werfen.

1.2. Pathogenese von Asthma bronchiale

Bei einer Erkrankung mit einer derart hohen Prävalenz möchte man meinen, dass man ihre Pathomechanismen außerordentlich gut kenne und eine allgemeingültige,

eindeutige Definition dafür zur Verfügung steht. Für Asthma bronchiale jedoch gibt es keine standardisierte Definition. Vielmehr führten zahlreiche Versuche einer Festlegung im Wesentlichen nur zu einer Deskription dreier Hauptsymptome: Reversible Atemwegsobstruktion, bronchiale Hyperreagibilität und chronische Entzündung der Atemwege. Letztere wird mittlerweile für das wichtigste Element gehalten, das die jeweils anderen bedingt. Man geht davon aus, dass hauptsächlich Störungen der epithelialen Barriere dafür sorgen, dass Umweltstoffe - wie Allergene - in die Bronchialwand eindringen können und dort eine chronische Entzündung verursachen (Holgate, 2007). In jüngster Zeit werden die Krankheit und die bronchiale Inflammation oft nach ihren diversen Phänotypen beschrieben (Wenzel, 2012). Für die Beschäftigung mit Stickoxid (FE_{NO}) am relevantesten ist die Einteilung der bronchialen Entzündung nach der jeweils vorherrschenden Zellart. Es können nach Simpson et al. eosinophile, neutrophile, gemischt granulozytäre und paucigranulozytäre Formen unterschieden werden (Simpson et al., 2006). Vielfach wurde gezeigt, dass ein Zusammenhang zwischen FE_{NO} und einer eosinophilen Entzündung besteht, die sowohl in Sputum als auch in peripherem Blut nachgewiesen werden konnte (Berry et al., 2005; Jatakanon et al., 1998; Schleich et al., 2010; Strunk et al., 2005; Warke et al., 2002). Einen weiteren wichtigen Aspekt der Pathogenese stellt das Airway Remodeling dar, Umbauvorgänge in der Bronchialwand, die sowohl durch die chronische Entzündung als auch durch die bloße Bronchokonstriktion bedingt werden (Grainge et al., 2011). Zwar konnten bislang keine quantitativen Merkmale etabliert werden, welche die Diagnose Asthma im klinischen, epidemiologischen oder genetischen Bereich vereinheitlichen würden, jedoch stellt die Erkenntnis der zugrundeliegenden chronischen Entzündung einen vielversprechenden Ansatz für die Diagnostik, die Kontrolle und letztlich möglicherweise für die Prävention der Erkrankung dar (Myers and Tomasio, 2011; Tattersfield et al., 2002).

1.3. Diagnostik bei Verdacht auf Asthma bronchiale

Nach wie vor gilt - neben einer genauen Anamnese zu atemwegsbezogenen Beschwerden in den vorhergehenden Monaten und einer eingehenden körperlichen Untersuchung mit besonderem Augenmerk auf den Respirationstrakt - die Spirometrie als Goldstandard bei der Diagnostik von obstruktiven Atemwegserkrankungen (National Asthma Prevention Program., 2007). Osborne et al. konnten zeigen, dass vor allem bei

hochgradigem Risiko für Asthma bronchiale die Spirometrie eine gute diagnostische Genauigkeit liefert (Osborne et al., 2007). Sie ist demnach durch eine hohe Spezifität gut geeignet, die Diagnose Asthma zu stellen („rule-in“). Problematisch ist jedoch die alleinige Diagnostik mittels Spirometrie bei Patienten mit milden Symptomen, da hier oft keine Obstruktion sichtbar wird und daher ein sicherer Ausschluss der Erkrankung nicht möglich ist („rule-out“) (Schneider et al., 2009). In diesen Fällen sollte ein bronchialer Provokationstest durchgeführt werden, um die Diagnose mit ausreichender Sicherheit stellen oder ausschließen zu können (Busse, 2012; Hunter et al., 2002).

Sie gilt immer noch als beste Methode bei der Diagnostik von Asthma bronchiale, auch wenn James et al. und Perpina et al. festgestellt haben, dass die diagnostische Genauigkeit stark von der Vortestwahrscheinlichkeit der jeweiligen Studienpopulation abhängt (James and Ryan, 1997; Perpina et al., 1993). Das beste Verhältnis aus negativem und positivem prädiktivem Vorhersagewert und damit die höchste diagnostische Güte erreichte in der Untersuchung von Perpina et al. die Provokation mit Methacholin bei einer Vortestwahrscheinlichkeit von 48%. Die Vortestwahrscheinlichkeit lässt sich wiederum entscheidend durch eine genaue Anamnese mit folgenden Fragen steigern:

- Pfeifen
- Atemnot
- Engegefühl in der Brust
- Husten bei kalter Luft, nach Anstrengung, während respiratorischer Infekte, nach Einatmung von bestimmten Stoffen am Arbeitsplatz, oder nach Inhalation von Allergenen

Durch den hohen negativen prädiktiven Vorhersagewert ist die Bronchoprovokation ideal zum Ausschluss („rule-out“) eines Asthma bronchiale geeignet (Crapo et al., 2000).

Allein ein gewisses - wenn auch geringes - Risiko einer schweren bronchialen Spastik muss bei der Untersuchung berücksichtigt werden, zu deren Behandlung geeignete Medikamente zur Verfügung stehen müssen (Crapo et al., 2000).

Auch wenn bei der Untersuchung nicht der Extremfall einer bronchialen Spastik eintritt, so ist sie doch für die meisten Patienten sehr unangenehm, weil bei bronchialer Hyperreagibilität eine mehr oder minder schwere Obstruktion resultiert. Aus diesem

Grund wäre es wünschenswert, für die Patienten ein diagnostisches Instrument vorzuhalten, mit dem man ihnen die unangenehme Bronchoprovokation ersparen könnte.

1.4. Neue Methoden im Monitoring – FE_{NO} als Biomarker der ersten Wahl bei Asthma bronchiale?

Zumeist werden in der klinischen Routine Lungenfunktionstests zur objektiven Diagnostik bei Verdacht auf obstruktive Atemwegserkrankungen herangezogen. Diese können jedoch im beschwerdefreien Intervall falsch negativ ausfallen. Der Erkenntnis folgend, dass gerade Asthma bronchiale auf einer chronischen Entzündungsreaktion mit strukturellem Umbau der Bronchialwand basiert, etablieren sich zunehmend Biomarker, die neben dem Einsatz in der reinen Diagnostik vor allem auch zur Unterscheidung des jeweils zugrunde liegenden Subtyps der Erkrankung beitragen können (Wadsworth et al., 2011). Als besonders bedeutsam haben sich in Bezug auf Asthma-Diagnostik und -Management Biomarker erwiesen, die in der Ausatemluft nachgewiesen werden können, darunter vor allem ausgeatmetes Atemkondensat und fraktioniertes exhalierendes Stickoxid (Wadsworth et al., 2011). Im Zuge der intensiven Beschäftigung mit atemwegsassoziiertem Stickstoffmonoxid (NO) wurden erstmals in den 1990er Jahren erhöhte FE_{NO}-Werte in der Ausatemluft von Asthmatikern aufgedeckt (Alving et al., 1993; Kharitonov et al., 1994; Persson et al., 1994). In diesem Zeitraum wurde auch ein Zusammenhang zwischen FE_{NO} und der eosinophilen Entzündung der Bronchialschleimhaut beobachtet (Berry et al., 2005; Jatakanon et al., 1998; Payne et al., 2001; Strunk et al., 2003; Warke et al., 2002). Diese Entdeckung weckte zunächst große Hoffnungen im Bezug auf das Therapiemanagement von Asthma bronchiale. Man erhoffte sich, durch das unkomplizierte Erkennen einer Eosinophilie die Therapie mit Corticosteroiden besser steuern und möglicherweise deren Dosis reduzieren zu können (Smith et al., 2005). Diese Hoffnung wurde jedoch in den letzten Jahren zunehmend angezweifelt. So konnte in einer Untersuchung von Szeffler et al. unter Jugendlichen die nötige Dosis an Corticoiden nach 46 Wochen Behandlung in der Patientengruppe, in der zusätzlich zu dem leitliniengerechten Monitoring regelmäßig FE_{NO} gemessen wurde, weniger stark gesenkt werden (Szeffler et al., 2008). Jüngst haben zudem Calhoun et al. in einer randomisierten kontrollierten Studie einen Vorteil der FE_{NO}-Messung gegenüber einer pneumologischen Erhebung

(Symptome, Bedarf an Notfallspray, Lungenfunktion) oder einer rein symptom-basierten Vorgehensweise in Bezug auf Therapieversagen und Anpassung der Medikamente in Frage gestellt (Calhoun et al., 2012). Hingegen konnte eine randomisierte, kontrollierte Studie an Schwangeren zeigen, dass durch ein FE_{NO}-basiertes Management die Exazerbationsrate gesenkt und die Lebensqualität verbessert werden können (Powell et al., 2011). Insofern wird bis heute der Nutzen der FE_{NO}-Messung zur Therapiekontrolle kontrovers diskutiert. Ein weiterer Fokus richtete sich zunehmend auf die Diagnostik. Um jedoch den Hintergrund eines Einsatzes der FE_{NO}-Messung in der Asthmadagnostik zu beleuchten, sollte zunächst die Frage gestellt werden, in welchem Abschnitt der Lunge das Stickoxid produziert wird und welche Auswirkungen der Produktionsort auf die Menge an ausgeatmetem NO (FE_{NO}) hat.

1.4.1. Bildung und Funktion von NO in der Lunge

FE_{NO} ist als Biomarker, der in der Ausatemluft bestimmt werden kann, erstmals 1991 in Erscheinung getreten, als Gustafsson et al. an Schweinen zeigen konnten, dass Stickoxid außer in den Endothelien der Blutgefäße zur Blutdruckregulation auch von einer NO-Synthase (NOS) in der Lunge produziert wird (Gustafsson et al., 1991). Hamid et al. konnten diesen Befund auf die menschlichen Atemwege übertragen. Sie konnten Epithelzellen und Entzündungszellen - allen voran Makrophagen - als Produktionsorte der NOS ausmachen (Hamid et al., 1993). Diese NO-Synthase katalysiert die Oxidation von L-Arginin, wobei NO gewonnen wird. Davon gibt es wiederum drei Isoformen: die neuronale NOS (nNOS), die induzierbare NOS (iNOS) und die endotheliale NOS (eNOS). Vor allem das von der iNOS produzierte NO ist an inflammatorischen Prozessen der Atemwege beteiligt (Ricciardolo et al., 2004). Lane et al. konnten nachweisen, dass hauptsächlich die induzierbare iNOS2 für die Produktion von dem NO in den Epithelien der Atemwege verantwortlich ist, das schließlich als FE_{NO} ausgeatmet wird (Lane et al., 2004). Diese Katalyse findet wiederum in Makrophagen, Epithelzellen und eingewanderten Entzündungszellen statt (Kharitonov et al., 1994). NO hat in der Lunge sowohl pro- als auch anti-inflammatorische Effekte. Positive Auswirkungen auf die Inflammation hat die bronchodilatatorische Wirkung, negative jedoch hat unter anderem die durch Superoxid vermittelte Aktivierung von Lymphozyten. Es bleibt aber weiterhin unklar, ob die primäre Funktion die

Abschwächung oder die Verstärkung der Entzündung bei Asthma bronchiale darstellt (Anderson et al., 2011; Folkerts et al., 2001; Xia et al., 1998).

Um den Weg von der Produktion zu exhalierem Stickoxid zu verstehen, sollte man nun einen Blick auf die Transportwege des NO in den Atemwegen werfen.

1.4.2. Zwei-Kompartiment-Modell

Messungen mit einem transbronchialen Katheter konnten nachweisen, dass NO vor allem in den Wänden der großen Atemwege und der Luftröhre, aber auch in dem Alveolarraum produziert wird und aus diesen durch Diffusion freigesetzt wird (Zwei-Kompartiment-Modell) (Barnes et al., 2010; Condorelli et al., 2007). Dem Fick'schen Gesetz folgend hängt die Diffusion von NO aus der Wand der Atemwege in das Lumen der Atemwege von dem herrschenden Konzentrationsgradienten ab. Das letztlich ausgeatmete NO entspringt also kumulativ der lateralen Diffusion aus den Atemwegswänden und dem längsgerichteten Transport der mit NO angereicherten Luft durch Bronchen und Luftröhre. Dieser Erkenntnis folgt die Feststellung, dass höhere Flussraten bei der Ausatmung durch eine kürzere Transitzeit zu niedrigerem FE_{NO} führen (Jorres, 2000). Die NO-Konzentration im Lumen nähert sich im Verlauf der Ausatmung immer stärker der Konzentration in der Atemwegswand an, bis ein konstantes Plateau erreicht wird (Silkoff et al., 2000). Eine Behinderung der Diffusion führt zu einer Abnahme des FE_{NO} . Dies kann etwa durch eine erhöhte Schleimproduktion oder eine Bronchokonstriktion, die zu einer verminderten Diffusionsoberfläche führt, hervorgerufen werden (Jorres, 2000). Ein Teil des NO wird zudem nicht als FE_{NO} ausgeatmet, da es in Richtung Alveolarraum entgegen dem Luftstrom zurückdiffundiert (Barnes et al., 2010).

Um also die Transitzeit des Luftstroms und damit die Diffusionszeit konstant zu halten, ist eine Standardisierung der FE_{NO} -Messung mit konstanter Flussrate für eine allgemein gültige, wiederholbare Aussage und einen Einsatz in der Routinediagnostik unbedingt nötig.

1.4.3. Mögliche Rolle von FE_{NO} in der Asthma-Diagnostik

Zahlreiche Studien zeigen einen Nutzen von FE_{NO} bei der Therapiekontrolle und der Beurteilung der Steroidsensibilität bei Asthmatikern auf (Beck-Ripp et al., 2002; Smith et al., 2005; Smith et al., 2005; Taylor et al., 2006). Auch in der Asthma-Diagnostik wird dem Stickoxid ein großes Potential attestiert (Berkman et al., 2005; Dupont et al., 2003; Fortuna et al., 2007). Smith et al. halten es sogar den herkömmlichen diagnostischen Methoden für überlegen (Smith et al., 2004). Kostikas et al. sehen in ihm darüber hinaus einen möglichen Nutzen als Instrument zu einem breit angelegten Screening (Kostikas et al., 2008).

Uneinigkeit herrscht jedoch im Bezug auf mögliche Einfluss- und Störfaktoren, die eine Etablierung von allgemeingültigen Referenzwerten zuließe (Dressel et al., 2008; Karrasch et al., 2011; Olin et al., 2007; Olin et al., 2006; Olivieri et al., 2006; Travers et al., 2007). Auch bei der Festlegung von cut-off Werten zum Ein- und Ausschluss der Diagnose existieren unterschiedliche Darstellungen (Dupont et al., 2003; Schleich et al., 2012; Schneider et al., 2009). Eine 2011 veröffentlichte Leitlinie der American Thoracic Society für klinische Anwendungen von FE_{NO} schlägt vor, die Messung von Stickoxid als unterstützendes Instrument bei der Asthma-Diagnostik einzusetzen, falls ein zusätzlicher objektiver Beweis benötigt werde. Für eine alleinige Diagnosestellung scheint sie jedoch unzureichend zu sein. Lediglich die Wahrscheinlichkeit für ein Ansprechen auf Steroide und das Vorliegen einer Eosinophilie ließen sich alleinig aus dem FE_{NO}-Wert ableiten (Dweik et al., 2011). Fortuna et al. lieferten vielversprechende Hinweise, dass die Kombination von FE_{NO} und Sputumanalyse zu einer hohen diagnostischen Genauigkeit führen könne (Fortuna et al., 2007).

1.5. Ökonomische Gesichtspunkte der FE_{NO}-Messung

Man sollte bei der Frage nach dem möglichen Einsatz der FE_{NO}-Messung in der Asthmadagnostik auch einen Blick auf ökonomische Aspekte werfen. Denn neben der Präzision und der möglichst einfachen Durchführbarkeit eines neuen diagnostischen Instruments spielt heutzutage das Streben nach einem effizienten Umgang mit den Ressourcen eine große Rolle im Gesundheitswesen. Berg und Lindgren haben 2008 eine Kostenanalyse für den Einsatz von FE_{NO} in der Diagnostik und im Asthma-Management während eines Jahres in Deutschland erstellt (Berg and Lindgren, 2008).

Laut damaliger Studienlage werde die Stickoxid-Messung kaum allein für die Asthma-Diagnostik eingesetzt, sondern am ehesten in Kombination mit einer Spirometrie. Die Kosten für eine Diagnostik mittels FE_{NO} in Kombination mit der Spirometrie waren in ihrer Analyse zwar etwa 10% höher als für eine Spirometrie mit Bronchodilatationstest (Berg and Lindgren, 2008). Zieht man aber in Betracht, dass heute in der pneumologischen Routinediagnostik gerade in milden Fällen sehr häufig eine Bronchoprovokation durchgeführt wird, wäre in diesem Fall die Kombination aus FE_{NO} -Messung und Spirometrie fast 70 % günstiger. Setzt man nach gestellter Diagnose ein Jahr lang die Stickoxid-Messung anstelle von herkömmlichen Lungenfunktionstests zur Therapiekontrolle und zur Vorbeugung von Exazerbationen ein, so waren in der Untersuchung die Gesamtkosten niedriger. Je nach Schweregrad ließen sich 30 bis 160 € pro Patient und Jahr einsparen (Berg and Lindgren, 2008). Im Hinblick auf eine mögliche Kostenersparnis könnte somit die FE_{NO} -Messung eine attraktive Alternative zu den bisherigen Standards in der Diagnostik und dem Management von Asthma bronchiale darstellen.

1.6. Nutzen und Problematik der Sputumuntersuchung bei der Asthmediagnostik

In Studien zur diagnostischen Genauigkeit von Stickoxid als indirektem Marker der bronchialen Entzündung wurden bisher selten inflammatorische Zellmuster als direkte Marker mit einbezogen (Schneider et al., 2012). Allerdings wird bei der Diagnostik und vor allem auch zur gezielten Anpassung einer Therapie bei Asthma bronchiale immer größeres Augenmerk auf die Subtypen der bronchialen Entzündung gelegt (Fahy, 2009; Wenzel et al., 1999). Es kommen Formen mit überwiegend eosinophilen, neutrophilen, gemischt granulozytären oder wenigen granulozytären (paucigranulozytär) Zellen vor (Simpson et al., 2006). Man weiß, dass eine eosinophile Entzündung der Atemwege ein weitaus besseres Ansprechen auf Corticosteroide verspricht, als andere Subtypen (Fujimoto et al., 1999; Little et al., 2000). Mit dieser korreliert FE_{NO} gut und kann damit das Ansprechen und den Bedarf von Corticosteroiden vorhersagen (Smith et al., 2005). Liegt aber zum Beispiel eine neutrophile Entzündung vor, kommt die Stickoxid-Messung an ihre Grenzen und liefert häufig irreführende Werte (Porsbjerg et al., 2009). Gerade der nicht-eosinophilen Inflammation wird aber seit einiger Zeit ein zunehmendes Interesse entgegengebracht. Die Exposition gegenüber Umwelteinflüssen wie

bakteriellem Endotoxin, Luftverschmutzung, Ozon und Virusinfekten kann ein neutrophiles Asthma begünstigen (Douwes et al., 2002). Zum Einen geht man davon aus, dass unter den besonders schweren Fällen von Asthma viele mit vorherrschender Neutrophilie sind (Monteseirin, 2009; Wenzel et al., 1997); Shaw et al. konnten zudem zeigen, dass bei diesen Patienten die Lungenfunktion selbst nach Bronchospasmolyse - ähnlich der COPD - eingeschränkt bleibt (Shaw et al., 2007). Zum Anderen spricht das neutrophile Asthma oft besonders schlecht auf inhalative Corticosteroide an (Green et al., 2002), weshalb man beide Arten unterscheiden muss, um eine möglichst individuell abgestimmte Therapiestrategie verfolgen zu können. Zur genauen Einordnung des Phänotyps der Entzündung sollte demnach zusätzlich ein direktes Verfahren zum Einsatz kommen. Eine einfache und kostengünstige Methode ist die Gewinnung von spontanem Sputum, das die Patienten zu Hause abgeben und dann zur Analyse einschicken können. Daraus wird in einem Zellausstrich semiquantitativ ein niedriger, mittlerer oder hoher Gehalt an neutrophilen oder eosinophilen Granulozyten ermittelt. Eine gewisse Einschränkung ergibt sich zwar aus der bisweilen mäßigen Qualität der Proben, die aus einer unkontrollierten Herstellung zu Hause und einer verspäteten Einsendung des Materials resultiert (Holz et al., 2008). Es konnte jedoch nachgewiesen werden, dass spontanes, zu Hause abgebebenes Sputum und induziertes, im klinischen Umfeld produziertes Sputum, eine gleichwertige Aussagekraft liefern, auch wenn in induziertem Sputum mehr lebensfähige Zellen enthalten sein mögen (Pizzichini et al., 1996).

1.7. Vergleich zweier FE_{NO}-Messgeräte

Zur Messung von FE_{NO} existieren zwei unterschiedliche Methoden. Zum Einen kommt in Studien und im klinischen Umfeld ein chemolumineszenzbasiertes Verfahren zum Einsatz. Zum Anderen wurde einige Zeit später ein Verfahren auf den Markt gebracht, das Stickoxid mit einem elektrochemischen Sensor misst. Das erste genannte Verfahren benötigt ein großes, stationäres Gerät, das in regelmäßigen Abständen kalibriert werden muss und das zudem einen sehr hohen Anschaffungspreis hat. Die zweite Methode kommt mit einem kleinen, tragbaren Gerät aus, das keine Kalibrierung benötigt und dessen Anschaffungspreis deutlich günstiger ist. Gerade im Umfeld der Allgemeinmedizin könnten diese Vorteile den Ausschlag zu einem breiteren Einsatz in der Diagnostik und Therapiekontrolle von Patienten geben. Menzies et al. und Alving et

al. haben in ihren Studienpopulationen mit gesunden Probanden und Asthmatikern nachgewiesen, dass beide Geräte eine gute Übereinstimmung zeigen und für den klinischen Einsatz gleichermaßen geeignet sind (Alving et al., 2006; Menzies et al., 2007).

1.8. Reliabilität des tragbaren FE_{NO}-Geräts

Für den Einsatz in der klinischen Routine muss bei dem tragbaren FE_{NO}-Gerät NIOX MINO[®] eine gute Wiederholungsgenauigkeit gegeben sein. Eine einzelne Messung sollte verlässliche Werte liefern, um den Zeitbedarf und die Kosten für Messeinheiten in Grenzen zu halten. Khalili et al. konnten zeigen, dass die Reliabilität des tragbaren Geräts ausreichend hoch ist, um sich in der Interpretation auf einen einzelnen Messwert zu stützen (Khalili et al., 2007). Auch Alving et al. kamen zu dem Schluss, dass die Wiederholungsgenauigkeit von NIOX MINO[®] außer bei extrem hohen FE_{NO}-Werten für einen klinischen Einsatz akzeptabel ist (Alving et al., 2006). Boot et al. konnten bestätigen, dass Messungen mit NIOX MINO[®] eine hohe Reliabilität aufweisen und somit für den klinischen und den Einsatz in Studien geeignet ist (Boot et al., 2008). Die Wiederholungsgenauigkeit soll nun neben der Übereinstimmung beider Geräte ebenfalls an einer unabhängigen, nicht vordiagnostizierten Population untersucht werden.

1.9. Ziele der Studie

Die Messung von FE_{NO} wird bislang in Deutschland sehr zurückhaltend eingesetzt. Das liegt zum Einen sicherlich an der bislang fehlenden Bereitschaft der Krankenkassen, die Kosten für die Untersuchung zu übernehmen, da schließlich der Nutzen der Messung sowohl für die Diagnostik als auch das Therapiemanagement nach wie vor unklar ist. Zum Anderen war die Stickoxid-Messung lange Zeit mit einem hohen Anschaffungspreis und aufgrund der Größe mit einem großen Platzbedarf verbunden. Seit einiger Zeit gibt es nun ein kleines, handliches Gerät, das zudem im Anschaffungspreis deutlich günstiger ist (Alving et al., 2006; Menzies et al., 2007). Daraus ergeben sich die ersten beiden Fragestellungen der Studie:

- Liefert das tragbare Gerät NIOX MINO[®] zuverlässige, wiederholbare Messungen?
- wie gut stimmen die Messungen von NIOX MINO[®] mit denen von NIOX[®] Flex überein?

Wenn sich schließlich das neue, tragbare FE_{NO}-Messgerät als praxistauglich herausstellt, ist zu untersuchen, ob der Einsatz in der Primärversorgung einen Ersatz für die Bronchoprovokation, insbesondere bei Pneumologen und Hausärzten, als diagnostisches Instrument bei Verdacht auf Asthma bronchiale darstellen kann.

Hieraus lässt sich das zentrale Ziel der Studie formulieren:

- wie hoch ist die diagnostische Genauigkeit der FE_{NO}-Messung bei Verdacht auf Asthma bronchiale?

Aus den Erkenntnissen, dass für Asthma bronchiale vor allem die Art der zugrunde liegenden Entzündung entscheidend ist, lässt sich ableiten, dass deren direkte Erfassung möglicherweise einen zusätzlichen Nutzen für die Diagnostik bringen könnte. Es stellt sich folglich die Frage:

- welchen Einfluss hat das inflammatorische Muster aus der Sputumzytologie auf die diagnostische Genauigkeit der FE_{NO}-Messung?

Letztlich führen diese Überprüfungen zu der Frage, ob eine sichere Diagnose eines Asthma bronchiale in der Primärversorgung für einen Pneumologen oder Hausarzt mit Hilfe der FE_{NO}-Messung und einer zusätzlichen Sputumzytologie möglich ist. Und können diese darüber hinaus gar eine teure, aufwändige Bronchoprovokation ersetzen? Als letztes, zukunftsweisendes Ziel ergibt sich daher:

- kann die FE_{NO}-Messung unter Zuhilfenahme einer Sputumzytologie die Bronchoprovokation ersetzen?

Das Ziel dieser Studie soll nun sein, die diagnostische Aussagekraft der FE_{NO}-Messung in Verbindung mit einer zytologischen Sputumanalyse bei Verdacht auf Asthma bronchiale in der klinischen Praxis zu untersuchen. Darüber hinaus sollen zwei Geräte

zur Messung des FE_{NO} auf ihre Vergleichbarkeit hin überprüft werden, ein stationäres teures und ein tragbares preiswertes.

2. Material und Methoden

2.1. Studiendesign

Die prospektive diagnostische Querschnittsstudie untersucht den Nutzen der FE_{NO}-Messung in Verbindung mit der Bestimmung von spontanem Sputum bei der Diagnostik von Asthma bronchiale. In diesem Rahmen wird zusätzlich die Messgenauigkeit von zwei gebräuchlichen Geräten - NIOX[®] Flex und NIOX MINO[®] - ermittelt.

400 Patienten, die erstmals mit dem Verdacht auf eine obstruktive Atemwegserkrankung zur Abklärung die pneumologische Praxis Dres. Hellmann, Faderl und Kollegen in Augsburg aufsuchten, wurden konsekutiv in die Studie eingeschlossen (siehe Abbildung 1). Der Verdacht auf eine obstruktive Atemwegserkrankung gründete sich auf die Symptome Atemnot, pfeifendes Atemgeräusch oder Husten mit oder ohne Auswurf über eine Dauer von mehr als zwei Monaten.

Bei der Erstvorstellung wurden bei den Patienten zuerst FE_{NO}-Messungen durchgeführt. Die Messungen erfolgten mit zwei Geräten der schwedischen Firma Aerocrine AB, in deren Bedienung das medizinische Fachpersonal der Praxis sowie der Autor der vorliegenden Dissertation eingewiesen wurden. Zum Einen wurde mit dem tragbaren Gerät NIOX MINO[®] gemessen, das mit einem elektrochemischen Sensor ausgestattet ist. Zum Anderen kam das stationäre Gerät NIOX[®] Flex zum Einsatz, das FE_{NO} mit einem Chemolumineszenz-Analysator misst. Die FE_{NO}-Messungen erfolgten nach folgenden Schemata: mindestens 100 Patienten sollten je drei Messungen mit NIOX MINO[®] und eine Messung mit NIOX[®] Flex erhalten. Bei weiteren 120 Patienten wurde je eine Messung mit NIOX MINO[®] und NIOX[®] Flex durchgeführt. Bei den restlichen 180 Patienten wurde je einmal mit NIOX MINO[®] gemessen.

Zusätzlich füllten alle Patienten einen strukturierten, standardisierten Fragebogen aus, in dem Informationen zu Symptomen, zu Raucherstatus sowie Medikamenten abgefragt wurden. Vor der pneumologischen Untersuchung erhielten alle Patienten Sputumröhrchen, in die sie nach mündlicher und schriftlicher Anleitung bei sich zu Hause morgendliches Sputum abgeben und dieses in einem vorfrankierten Umschlag in das zytologische Labor des pneumologischen Krankenhauses Großhansdorf

(Leiter: PD Dr. med. Lutz Welker, ärztlicher Direktor: Prof. Dr. med. Klaus F. Rabe) einsenden sollten. Anschließend erhielten alle Patienten eine bodyplethysmographische Untersuchung mit Methacholin-Provokation oder Bronchodilatationstest mit Salbutamol gemäß ATS-Richtlinien und der Nationalen Versorgungsleitlinie Asthma (Ärztliches Zentrum für Qualität, 2009). Vorrangig anhand des Befundes dieser Untersuchung, aber auch in Zusammenschau mit den klinischen Symptomen der Patienten, stellte jeweils eine Fachärztin oder ein Facharzt für Pneumologie der oben genannten Praxis eine Diagnose. Auf einem strukturierten Dokumentationsbogen wurden die Befunde der klinischen Untersuchung sowie die endgültige Diagnose vermerkt. Die Pneumologen waren gegenüber den FE_{NO}-Messungen, dem Patienten-Fragebogen und den Ergebnissen der Sputumuntersuchung verblindet.

Es erfolgte zwar keine exakte Erfassung von Probanden, die von der Untersuchung ausgeschlossen werden mussten oder die Teilnahme verweigerten. Aufgrund des geringen zeitlichen Aufwands für die Teilnehmer, die die Messung und das Ausfüllen des Fragebogens ohnehin während der Wartezeit auf die reguläre Behandlung absolvierten, gab es jedoch so gut wie keine Verweigerungen. Auch die Zahl der nötigen Ausschlüsse durch das Studiendesign blieb äußerst gering, da wegen der Zielsetzung der möglichst guten klinischen Aussagekraft die Ausschlusskriterien knapp gehalten wurden. So wurde der größte Teil der potentiellen Teilnehmer tatsächlich eingeschlossen.

Die Ethikkommission der Fakultät für Medizin der Technischen Universität München willigte in der Sitzung vom 13.04.2010 unter der Projektnummer 2760/10 in die Durchführung der Studie ein. Alle Patienten wurden anhand eines Informationsschreibens zu ihrer Teilnahme an der Studie und den damit verbundenen Risiken aufgeklärt und gaben ihr schriftliches Einverständnis.

Mit der Gesamtstudie werden folgende zwei Ziele verfolgt:

In der vorliegenden Arbeit wird die diagnostische Genauigkeit der FE_{NO}-Messung unter Berücksichtigung des zugrundeliegenden Entzündungsmusters mit Hilfe einer Sputumanalyse geklärt.

In einer gesonderten Dissertation wird von Bernhard Faderl, Pneumologe in Augsburg, der prädiktive Wert der FE_{NO}-Messung zur Beurteilung des klinischen Verlaufs der Teilnehmer - insbesondere im Vergleich zu den Parametern im Bodyplethysmographen - über ein Jahr untersucht.

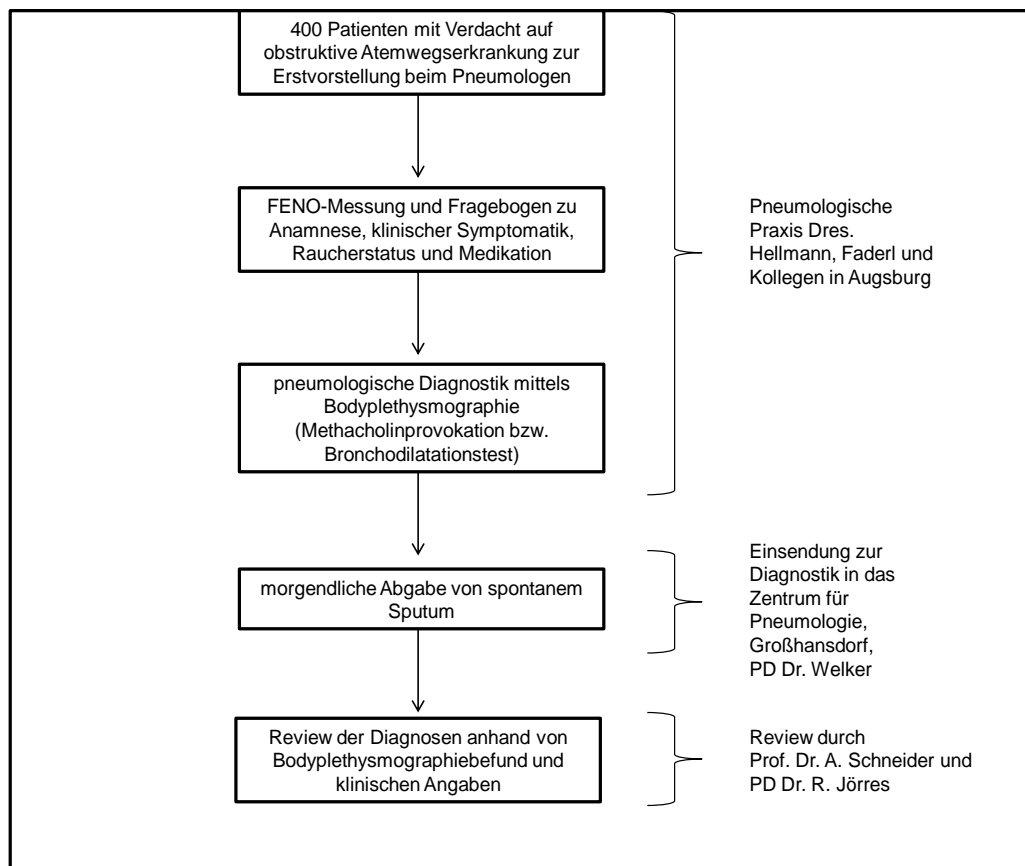


Abbildung 1: Studiendesign

2.2. Studienpopulation

Alle Patienten, die zwischen Juni 2010 und Oktober 2011 zum ersten Mal mit dem Verdacht auf Asthma bronchiale die pneumologische Praxis Dres. Hellmann, Faderl und Kollegen in Augsburg aufsuchten, die Einschlusskriterien erfüllten und der Teilnahme zustimmten, wurden konsekutiv in die Studie eingeschlossen.

2.2.1. Einschlusskriterien

In die Studie wurden alle volljährigen Patienten konsekutiv eingeschlossen, die mit dem Verdacht auf eine obstruktive Atemwegserkrankung die pneumologische Praxis Dres. Hellmann, Faderl und Kollegen in Augsburg aufsuchten, und bei denen noch keine derartige Erkrankung diagnostiziert wurde. Symptome, die diesen Verdacht aufkommen lassen, sind vor allem Atemnot, Husten mit oder ohne Auswurf und das für eine

Bronchokonstriktion typische Pfeifen. Voraussetzungen zur Teilnahme waren die körperliche Fähigkeit zu einer suffizienten Durchführung der FE_{NO}-Messung und ausreichende Deutschkenntnisse, um den Sinn der Studie erfassen und einen Anamnesebogen ausfüllen zu können. Die Patienten mussten schriftlich ihr Einverständnis mit den Studienbedingungen erklären.

2.2.2. Ausschlusskriterien

Den Einschlusskriterien entsprechend mussten Patienten ausgeschlossen werden, die der Teilnahme nicht schriftlich zustimmten, zum Untersuchungszeitpunkt jünger als 18 Jahre waren oder körperlich nicht in der Lage waren, eine suffiziente FE_{NO}-Messung durchzuführen; des Weiteren konnten Personen nicht teilnehmen, die ungenügende Deutschkenntnisse aufwiesen, um den Sinn der Studie zu erfassen. Auch durften keine Patienten aufgenommen werden, bei denen bereits ein Asthma bronchiale oder eine anderweitige obstruktive Atemwegserkrankung diagnostiziert worden war.

Ferner ergaben sich durch eine mögliche Verfälschung der FE_{NO}- Messwerte und der Bronchoprovokation weitere Kriterien zum Ausschluss von der Studie:

Patienten, die innerhalb von 24 Stunden vor der Untersuchung geraucht hatten, wurden ausgeschlossen, da Nikotinkonsum zu falsch niedrigen FE_{NO}-Werten führt (Dressel et al., 2008; Karrasch et al., 2011; Malinowski et al., 2006). Kaffeekonsum im gleichen Zeitraum führte nicht zum Ausschluss, um den möglichen Einsatz der FE_{NO}- Messung in der Routine-Diagnostik unter realistischen Bedingungen zu untersuchen. Taylor et al. fanden keinen signifikanten Einfluss von Koffein auf den FE_{NO}-Wert bei Asthmatikern (Taylor et al., 2004). Der Konsum von Kaffee und der Zeitraum seit der letzten Mahlzeit wurden jedoch dokumentiert.

Einige Erkrankungen stellten Kontraindikationen für eine Bodyplethysmographie mit Bronchoprovokation oder Bronchodilatationstest dar: Herz- und Gefäßerkrankungen wie eine koronare Herzkrankheit, schwere Herzrhythmusstörungen, unkontrollierte Hypertonie, ein stattgehabter Herzinfarkt oder Schlaganfall in den letzten drei Monaten sowie ein bekanntes Aortenaneurysma. Auch eine schwergradige bronchiale Obstruktion mit großer Einschränkung der Flussrate, eine Hyperthyreose und eine bestehende Schwangerschaft machten eine Teilnahme unmöglich.

2.3. Diagnostik

2.3.1. FE_{NO}-Messung

Die Messung des fraktionierten exhalierten Stickstoffmonoxids (FE_{NO}) zur Aufdeckung einer eosinophilen Entzündung der Atemwege erfolgte in der pneumologischen Praxis Dres. Hellmann, Faderl und Kollegen in Augsburg durch geschultes Praxispersonal und einen Doktoranden nach den Richtlinien der American Thoracic Society sowie der European Respiratory Society von 2005 (ATS/ERS, 2005). Die Messung von FE_{NO} erfolgte vor der eingehenden pneumologischen Diagnostik, da das FE_{NO} nach forcierten spirometrischen Atemmanövern bei Asthmatikern und gesunden Personen in aller Regel abfällt, wohingegen die bronchiale Provokation mit Allergenen eine Erhöhung bewirkt (Deykin et al., 1998; Deykin et al., 2000). Es kamen zwei Geräte der schwedischen Firma Aerocrine AB zum Einsatz: zum Einen das tragbare NIOX MINO[®] mit einem elektrochemischen Sensor, zum Anderen das stationäre NIOX[®] Flex mit Chemolumineszenz-Analysator. Die Messung mit beiden Geräten hatte zum Ziel, erstens die Übereinstimmung beider Geräte bezüglich der Messgenauigkeit und zweitens die Reliabilität des tragbaren NIOX MINO[®] für den Einsatz in der Routinediagnostik in dieser großen Studienpopulation mit unselektiertem Patientengut zu überprüfen (Alving et al., 2006; Khalili et al., 2007; Korn et al., 2010). Zu diesem Zweck wurden bei mindestens den ersten 100 Patienten jeweils drei Messungen mit NIOX MINO[®] und eine mit NIOX[®] Flex, bei weiteren 120 jeweils eine mit beiden Geräten und bei den restlichen 180 Patienten nur noch jeweils eine Messung mit NIOX MINO[®] durchgeführt. Eine orientierende Analyse während der Erhebung sicherte die gute Übereinstimmung beider Geräte, sodass bei den letzten 180 Patienten auf eine Messung mit beiden Geräten verzichtet werden konnte. Die Flussrate orientierte sich für beide Geräte an den Empfehlungen der ATS/ERS, wonach bei 50 ml/s das bestmögliche Verhältnis aus Sensitivität der Messung und Komfort für den Patienten gegeben ist. Zu geringe Flussraten führen zu einer unzumutbar langen Phase der Ausatmung (ATS/ERS, 2005). Bei zu hohen Flussraten besteht durch fehlenden Verschluss des weichen Gaumens die Gefahr der Vermischung mit nasalem NO (Kharitonov and Barnes, 1997). Die Kalibrierung des stationären NIOX[®] Flex Gerätes erfolgte regelmäßig alle zwei Wochen mit einem Kalibrierungsgas, das aus Stickstoff mit einem festgelegten Anteil von NO von 200 ± 20 ppb bei einem Druck von 3 bar besteht.

Daten der Geräte:

NIOX[®] Flex:

Umgebungsbedingungen:	Luftfeuchtigkeit 30-75% Luftdruck 860-1060 hPa Temperatur 15-30°C
Messbereich:	0-200 ppb
Abweichung:	±3 ppb in 14 Tagen
Genauigkeit:	±2,5 ppb unter 50 ppb, ≤5% über 50 ppb
Präzision:	SD < 2,5 ppb für Messwerte < 50 ppb für Messwerte ≥ 50 ppb nicht evaluiert
Linearität:	< 2,5 ppb integrale Linearität
Nachweisgrenze:	1 ppb
Zeitraum des Ansprechens:	200 ms
Kalibrierung:	alle 14 Tage
Kalibrierungsgas:	200 ± 20 ppb NO in N ₂ mit 3 bar absolutem Druck



Abbildung 2: NIOX[®] Flex

NIOX MINO[®]:

Umgebungsbedingungen:	Luftfeuchtigkeit 20-60% Luftdruck 700-1060 hPa Temperatur 16-30°C
NO-Konzentration in der Umgebungsluft:	< 300 ppb
expiratorischer Fluss bei FE _{NO} - Messungen:	

50 ml/s \pm 10% BTPS (Body Temperature Pressure Saturated, 37°C, 1013 hPa, 100% RLF[relative Luftfeuchtigkeit])

Messbereich:	5-300 ppb
unterste Nachweisgrenze:	5 ppb
Expirationsdauer:	10 Sekunden für klinische Anwendungen
FE _{NO} -Messdauer:	< 2 min
Temperaturstabilisierungsdauer:	\leq 30 min
Genauigkeit:	Analytische Genauigkeit \pm 5 ppb oder max. 10% (Entspricht der oberen 95-%-Vertrauensgrenze, die auf absoluten Differenzen für Konzentrationen \leq 50 ppb und relativen Differenzen für Konzentrationen > 50 ppb der zertifizierten Gaskonzentration des Stickstoffmonoxid-Referenzstandards basiert.)
Linearität:	Quadrat des Korrelationskoeffizienten $r^2 \geq 0,998$, Steigung 0,95-1,05, Achsenabschnitt \pm 3 ppb. Bestimmt anhand der gepoolten Regressionsanalyse von 10 Geräten unter Verwendung von Standardgasproben bei 7 unterschiedlichen Konzentrationsstufen, die dem Messbereich entsprechen.
Präzision:	< 3 ppb für Messwerte < 30 ppb, < 10% für Messwerte \geq 30 ppb (Angegeben als Standardabweichung bei wiederholten Messungen mit demselben Gerät auf Grundlage einer zertifizierten Gaskonzentration des Stickstoffmonoxid-Referenzstandards)
Methodenvergleich:	<10 ppb für Werte <50 ppb <20% für Werte >50 ppb (angegeben als Differenz zwischen einem NIOX MINO [®] FE _{NO} -Wert und dem entsprechenden FE _{NO} -Wert, gemessen mit einem NIOX [®] Gerät von Aerocrine.)
Sensor:	vorkalibrierter Einweg-Sensor für 300 Messungen mit maximal 12 Monaten Haltbarkeit



Abbildung 3: NIOX MINO®

2.3.2. Durchführung der FE_{NO}-Messungen

Die FE_{NO}-Messungen wurden nach eingehender Geräteeinweisung durch einen Mitarbeiter der Firma Aerocrine AB sowie eine medizinisch-technische Assistentin aus der Lungenfunktionsambulanz der Abteilung für Arbeitsmedizin der LMU München (Direktor: Prof. Dr. D. Nowak), von den medizinischen Fachangestellten der pneumologischen Praxis Dres. Hellmann, Faderl und Kollegen sowie dem Autor der vorliegenden Arbeit durchgeführt. Die Messungen erfolgten bei den Patienten, die mit beiden Geräten untersucht wurden, zuerst mit NIOX MINO®, das sich in der Handhabung und im Komfort für die Probanden als einfacher und bequemer herausstellte. Die Patienten wurden gebeten, mit dem Gerät in der Hand vollständig auszuatmen, anschließend nach Umschließen des Mundstückes so tief wie möglich einzuatmen und daraufhin mit einem konstanten Fluss von etwa 50 ml/s durch das Mundstück auszuatmen. Zur Aufrechterhaltung dieser Flussrate in einem möglichst engen Bereich wird auf dem Gerät eine Animation angezeigt. Zusätzlich weist ein akustisches Signal die Patienten auf die Einhaltung der richtigen Flussrate hin. Konnte diese nicht lange genug beibehalten werden, wurde die Messung abgebrochen und musste wiederholt werden. Nach einer Minute und dreißig Sekunden konnte der gemessene FE_{NO}-Wert, in ppb auf ganze Zahlen ohne Nachkommastelle gerundet, auf dem Bildschirm abgelesen werden. Die Messung mit dem stationären NIOX® Flex folgte dem gleichen Schema, erforderte jedoch eine exaktere Einhaltung der Flussrate, wodurch das Erreichen einer erfolgreichen Messung oft zahlreiche Versuche verlangte. Bei diesem Gerät werden die Patienten durch ein optisches Signal auf einem Computerbildschirm auf die richtige Flussrate hingewiesen. Für Erwachsene ist eine Anzeige, die einem Tachometer gleicht, vorgesehen. Für Kinder wird ein Ballon, der einen Fluss überquert, empfohlen. Dieses optische Hilfsmittel hat sich bei den Messungen jedoch auch für Erwachsene als einfacher erwiesen. Mit diesem Gerät sind

jeweils drei Einzelmessungen durchzuführen, deren Mittelwert als endgültiger Messwert in ppb mit einer Nachkommastelle ausgegeben wird. Liegt einer der Messwerte weit von den anderen beiden entfernt, wird eine vierte Messung gefordert. An beiden Geräten wurde für jeden Patienten ein neues Mundstück verwendet, das mit einem Viren- und Bakterienfilter gemäß Klasse II a der Richtlinie über Medizinprodukte ausgestattet war.

2.3.3. Zytologie von spontanem Sputum

An die FE_{NO}-Messung anschließend wurde allen Patienten ein Sputumröhrchen mit 50 ml Fassungsvermögen ausgehändigt, in das sie nach mündlicher und ausführlicher schriftlicher Anleitung innerhalb der nächsten zwei Tage nach der Untersuchung zu Hause morgendliches spontanes Sputum abgeben sollten. Den Patienten wurde ein adressierter, frankierter Umschlag mitgegeben, mit der Bitte, das Sputum schnellstmöglich in das zytologische Labor des Krankenhauses Großhansdorf (Leitung: PD Dr. med. Lutz Welker, ärztlicher Direktor: Prof. Dr. med. Klaus F. Rabe) einzusenden. Dort fertigte der erfahrene Zytologe PD Dr. med. Lutz Welker innerhalb eines Tages eine Giemsa-Färbung von einem Ausstrich der Probe an. Bei ausreichender Sputumqualität wurde semi-quantitativ der Grad der Entzündung bestimmt und die vorherrschenden Entzündungszellen in neutrophile und eosinophile Granulozyten sowie Lymphozyten differenziert. Daneben wurde aus rechtlichen Gründen das Vorkommen von Tumorzellen ausgeschlossen.

2.3.4. standardisierter Fragebogen

Als zusätzliches Hilfsmittel zur Einschätzung des klinischen Status und zur Erfassung der speziell auf eine obstruktive Atemwegserkrankung hinweisenden Anamnese erhielten alle Patienten einen Fragebogen, den sie während der Wartezeit auf die nächsten Untersuchungen in der Praxis ausfüllen sollten. Darin wurden Informationen zu atemwegsassoziierten Symptomen sowie zu Allergie-, Raucher- und Medikamentenstatus erfragt. Der Fragebogen befindet sich im Anhang.

2.3.5. Referenzstandard

In der Asthmediagnostik gelten, neben der ausführlichen Anamnese und der körperlichen Untersuchung, die Untersuchung einer reversiblen Atemwegsobstruktion sowie einer bronchialen Hyperreagibilität mittels Spirometrie als Referenzstandard (Buhl et al., 2006; National Asthma Education and Prevention Program., 2007). Als diagnostisches Verfahren von größerer Sicherheit hat sich dabei die Bodyplethysmographie erwiesen, da hiermit mitarbeitersunabhängige Parameter wie das intrathorakale Gasvolumen und vor allem der totale und spezifische Atemwegswiderstand bestimmt werden können. Insbesondere in Deutschland hat sich der flächendeckende Einsatz der Bodyplethysmographie auch im Bereich der niedergelassenen Pneumologen durchgesetzt.

2.3.5.1 Bodyplethysmographie

Bei allen Patienten wurde nach eingehender Anamnese durch eine Fachärztin oder einen Facharzt für Pneumologie der Praxis Dres. Hellmann, Faderl und Kollegen in Augsburg eine Lungenfunktionsdiagnostik mittels Bodyplethysmographie (Jaeger[®] Master Screen[®]) durchgeführt. Die Durchführung der Messung erfolgte anhand der Vorgaben der ATS von 1994 und 2005 (American Thoracic Society, 1995; Miller et al., 2005). Demnach müssen wenigstens drei befriedigende Atemmanöver hintereinander erreicht werden, aus denen man die höchsten Werte für FEV₁ und FVC heranzieht. Für alle übrigen Parameter wird das Manöver ausgewählt, das die höchste Summe aus FEV₁ und FVC aufweist. Sollten nach achtfacher Wiederholung keine drei adäquaten Manöver zustande kommen, obliegt die Interpretation bezüglich der Verwertbarkeit der Untersuchung den verantwortlichen Ärzten. Weitere Versuche würden wegen Erschöpfung der Atmung zu falsch niedrigen Ergebnissen führen. Für alle Patienten wird ein auf Alter, Geschlecht und Größe angepasster Referenzwert errechnet (American Thoracic Society, 1995; Miller et al., 2005).

2.3.5.2 Bronchodilatationstest

Ergab der Tiffeneau-Quotient (FEV₁/FVC) in der initialen Spirometrie einen Wert unter 70% der Norm oder die Einsekundenkapazität (FEV₁) einen Wert kleiner 80% der

Norm, wurde die Reversibilität der Atemwegsobstruktion mittels Bronchodilatationstest überprüft. 20 Minuten nach Inhalation eines kurzwirksamen β -Agonisten (Salbutamol) wurde ein spirometrisches Atemmanöver durchgeführt. Zeigte sich hierbei eine Reversibilität um mehr als 12% oder 200 ml im Bezug auf den Ausgangswert und stieg die Lungenfunktion wieder in den Bereich der Normwerte an, wurde die Diagnose Asthma gestellt. Wurden zwar eine Steigerung um 12 % oder 200 ml erreicht, jedoch keine Rückkehr in den Normbereich, wurde eine inkomplette Antwort auf den Bronchodilatationstest abgeleitet. Wurden die erforderlichen Grenzwerte für die Feststellung einer Reversibilität nicht vollständig erreicht, oblag die Interpretation, ob ein fixiertes Asthma bronchiale oder eine chronisch obstruktive Lungenerkrankung vorlag, dem behandelnden Pneumologen. Eine COPD wurde diagnostiziert, wenn keine Reversibilität um 12% und mindestens 200ml erreicht werden konnte.

2.3.5.3 Bronchoprovokation

Bei Messwerten in der initialen Spirometrie, die für FEV_1 über 80% des Soll und für den Tiffeneau-Quotienten (FEV_1/FVC) über 70% des Soll lagen, wurde eine inhalative Provokation mit Methacholin durchgeführt. Hierzu bevorzugte man ein von den Leitlinien der ATS abweichendes, aber in Studien für klinisch anwendbar befundenes Schema. In vier Stufen wurde die Dauer der Inhalation einer festen Methacholin-Konzentration von 16 mg/ml kontinuierlich gesteigert, sodass die aufgenommene Dosis mit jeder Stufe anstieg (Merget et al., 2009). Kriterien für ein positives Testergebnis waren der Abfall von FEV_1 um mindestens 20% des Ausgangswertes (PC_{20}) oder die Verdoppelung des Atemwegswiderstandes, wobei dieser mindestens auf 0,5 kPa*s/l beziehungsweise 2,0 kPa*s ansteigen musste (Buhl et al., 2006). Bei Erreichen eines der genannten Grenzwerte oder bei starker subjektiver Obstruktion der Atemwege vor der höchsten Dosierungsstufe wurde die Untersuchung auf einer niedrigeren Dosierungsstufe abgebrochen. Um die Aussagefähigkeit des Tests nicht zu beeinträchtigen, durften vor dem Test keine antiobstruktiven Medikamente eingenommen werden. So musste jegliche kurzwirksame antiobstruktive Medikation (kurzwirksame β -Agonisten oder kurzwirksame Anticholinergika) innerhalb von vier Stunden vor dem Test pausiert werden, langwirksame antiobstruktive Medikamente (langwirksame β -Agonisten, Theophyllin) sollten 12 Stunden vor der Untersuchung nicht

mehr eingenommen werden (Miller et al., 2005). Vom Studiendesign ohnehin ausgeschlossen war Rauchen innerhalb von 24 Stunden vor der Untersuchung.

2.3.6. Review der Diagnose Asthma bronchiale durch ein Expertengremium

Die vorbeschriebenen diagnostischen Maßnahmen stellen gewissermaßen die wissenschaftlich- theoretische Grundlage der Asthmediagnostik dar. In der klinischen Routinearbeit der pneumologischen Praxis spielt jedoch die Erfahrung des jeweils behandelnden Arztes eine große Rolle, wodurch eine Diagnose meist in Zusammenschau von objektiven Untersuchungsbefunden mit klinischem Bild, Symptomen und Einschätzung des Pneumologen entsteht. Um diesem Umstand Rechnung zu tragen, aber gleichzeitig eine möglichst objektive, valide Diagnostik zu sichern, wurde ein Expertengremium eingesetzt, das die Diagnosen auf ihre Plausibilität hin überprüfte. Bei Unklarheiten wurde Rücksprache mit dem den ursprünglichen Befund erstellenden Pneumologen gehalten. Das Expertengremium setzte sich aus PD Dr. rer.nat. Rudolf A. Jörres und Prof. Dr. med. Antonius Schneider zusammen. Die Experten waren ebenso wie die behandelnden Pneumologen gegenüber den FE_{NO}-Werten verblindet.

2.4. Datenverarbeitung und Statistik

2.4.1. Datenerhebung und -verarbeitung

Für jeden Patienten wurde eine Mappe zur Dokumentation angelegt. Die vollständige Befunderhebung bestand aus dem ausgefüllten standardisierten Fragebogen, einem Bogen zur Dokumentation der FE_{NO}-Messwerte mit Angaben zu Anstrengung und letzter Mahlzeit vor der Untersuchung, einem Befundbogen, in dem die körperliche Untersuchung und die Diagnose durch die Pneumologen vermerkt wurden, sowie einem Ausdruck der Lungenfunktionswerte. Nach einer ersten Plausibilitätsprüfung auf Vollständigkeit der erhobenen Befunde wurden alle Daten in das Programm SPSS (IBM SPSS statistics 19.0 für Windows) eingegeben. Die Daten wurden nach der Eingabe auf

Vollständigkeit, Konsistenz und Plausibilität überprüft und anschließend für die statistische Auswertung verwendet.

2.4.2. Fallzahlplanung

Die Powerberechnung zur Planung der für die Studie nötigen Patientenzahl stützte sich auf vorhergehende Studien (Berkman et al., 2005; Dupont et al., 2003) und ein zuvor durchgeführtes Pilotprojekt in zehn Hausarztpraxen (Schneider et al., 2009). Eine diagnostische Studie von Schneider et al. zur Untersuchung der Genauigkeit von klinischen Zeichen und Symptomen bei Asthma und COPD ergab eine Prävalenz für Asthma von 34,5% in einer pneumologischen Praxis (Schneider et al., 2012). Hierbei wurden allerdings nur diejenigen berücksichtigt, die mittels Bronchoprovokation diagnostiziert wurden. Bei 25 von 259 Patienten (9,6%) durfte keine Bronchoprovokation durchgeführt werden. Nach Simel et al. (Simel et al., 1991) wurde die erforderliche Patientenzahl wie folgt errechnet:

Zu erwartende minimale Sensitivität $se = 0,32$

Zu erwartende minimale Spezifität $sp = 0,93$

Zu erwartende Prävalenz Asthma $p = 0,345$

Zu akzeptierende Breite des Konfidenzintervalls: $\Delta/2 = 0,09$ (d.h. $\Delta = 0,18$)

Die erforderliche Anzahl für Kranke n_d berechnet sich bei einer Sensitivität von 0,32 als:

$$n_d \approx [1,96^2 \times se(1-se)] \div (\Delta \div 2)^2 = [1,96^2 \times 0,32(1-0,32)] \div (0,18 \div 2)^2 = 103,2 \approx 104$$

Die erforderliche Anzahl für Kranke n_d berechnet sich bei einer Spezifität von 0,93 somit als:

$$n_d \approx [1,96^2 \times sp(1-sp)] \div (\Delta \div 2)^2 = [1,96^2 \times 0,93(1-0,93)] \div (0,18 \div 2)^2 = 30,9 \approx 31$$

Insgesamt musste demnach bei 104 Patienten mittels Bronchoprovokation ein Asthma bronchiale diagnostiziert werden, um innerhalb der Breite des Konfidenzintervalls von $\pm 9\%$ zu bleiben. Unter der Annahme einer Asthma-Prävalenz von etwa 34,5% errechnete sich die erforderliche Gesamtzahl an Patienten wie folgt:

$$n = n_d \div p = 104 \div 0,345 = 301,4 \approx 302$$

Man nahm allerdings an, dass bei etwa 10-15% kein Bronchoprovokationstest durchgeführt würde und bei der anschließenden follow-up Erhebung nach einem Jahr eine drop-out Rate von etwa 10% zu beklagen sei. Somit legte man die erforderliche Patientenstichprobe für die Studie auf 400 fest.

2.4.3. Statistische Methoden

2.4.3.1 Deskriptive Statistik

Die Gesamtzahl der eingeschlossenen Patienten und ihre Eigenschaften wurden zunächst deskriptiv beschrieben. Die Darstellung der Daten erfolgte mit der Angabe von Absolut- und Prozentwerten sowie Mittelwerten und Standardabweichungen. Zusätzlich wurden Minima und Maxima ermittelt. Bei Messwerten mit großen Ausreißern wurde außerdem der Median angeführt. Unterschiede zwischen Diagnosegruppen wurden für ordinalskalierte Daten mit dem Chi-Quadrat-Test und für intervallskalierte Daten mit dem t-Test dargestellt. Bei nichtparametrischen abhängigen Variablen wurde mit dem Kruskal-Wallis beziehungsweise dem Mann-Whitney-U-Test gerechnet, bei Normalverteilung der Messwerte kamen t-Test und ANOVA zum Einsatz.

2.4.3.2 Intra-Klassen-Korrelation

Um die Test-Retest-Reliabilität der FE_{NO}-Messung zu überprüfen, wurden bei 104 Patienten jeweils drei Messungen in kurzen Zeitabständen mit dem neuen NIOX MINO[®] durchgeführt. Bei nicht normal verteilten FE_{NO}-Werten wurden die Messwerte log-transformiert. Die Reliabilität von drei wiederholten Messungen mit dem gleichen Gerät wird am besten mit dem Intra-Klassen-Korrelationskoeffizienten (ICC) abgebildet (Shrout and Fleiss, 1979). Hierbei wird die Varianz zwischen den einzelnen Messwerten mit der Gesamtvarianz aller Messwerte in Beziehung gesetzt.

$$\rho = \frac{\sigma_1^2}{\sigma_1^2 + \sigma_2^2}$$

ρ = ICC

σ_1^2 = Varianz zwischen einzelnen Messwerten

σ_2^2 = Varianz der Messpaare

$$\sigma_1^2 + \sigma_2^2 = \text{Gesamtvarianz}$$

Der Koeffizient kann Werte zwischen -1,0 und 1,0 annehmen, wobei 1,0 die bestmögliche Übereinstimmung der Messungen anzeigt. Die Höhe des Koeffizienten, ab der man von einer klinisch zufriedenstellenden Zuverlässigkeit spricht, liegt über 0,6 (Faul et al., 1999).

Ein wichtiger Nebenaspekt der Studie zielte darauf ab, die Übereinstimmung der Messwerte des tragbaren Gerätes NIOX MINO[®] mit dem stationären, deutlich teureren Gerät NIOX[®] Flex zu überprüfen.

Aufgrund der nicht normalverteilten FE_{NO}-Werte wurden alle Berechnungen zur Übereinstimmung beider Geräte mit log-transformierten Werten durchgeführt. Zudem wurde die Übereinstimmung jeweils mit der ersten NIOX MINO[®]-Messung und mit dem Mittelwert aus drei Messungen mit NIOX MINO[®] analysiert.

2.4.3.3 Regressionsanalyse

Es wurde zunächst eine lineare Regressionsanalyse durchgeführt. Darin wurden Parameter, die möglicherweise die Übereinstimmung der Geräte beeinflussen könnten, als unabhängige Variablen gegen die Differenz der FE_{NO}-Werte beider Geräte als abhängige Variable getestet. Von Karrasch et al. und Dressel et al. wurden in ihren Arbeiten folgende Parameter ermittelt, die einen Einfluss auf FE_{NO}-Werte und damit die Kongruenz der beiden Geräte haben können: Rauchen, Atemwegsinfekte, Allergien, Alter, Größe und Geschlecht (Dressel et al., 2008; Karrasch et al., 2011). Auf Grundlage dieser Parameter wurde zunächst eine lineare Regressionsanalyse durchgeführt, um eine mögliche Einflussnahme der gefundenen Parameter auf die Übereinstimmung der Geräte in der vorliegenden Studienpopulation zu überprüfen. Die von Karrasch et al. und Dressel et al. gefundenen Parameter wurden dabei als unabhängige Variablen gegen die Differenz der FE_{NO}-Werte beider Geräte als abhängige Variable getestet. Um eine eventuelle Beeinflussung eines Parameters durch einen anderen auszuschließen, wurde im Falle eines signifikanten Ergebnisses eine Interaktionsanalyse durchgeführt.

In einem zweiten Schritt wurde zur orientierenden Einschätzung mit log₁₀-transformierten FE_{NO}-Werten der Korrelationskoeffizient nach Pearson berechnet. Dieser ist jedoch anfällig für Fehlinterpretationen. Ein konstant höherer oder niedrigerer

Messwert, der die Übereinstimmung zweifelsohne beeinträchtigt, würde die Korrelation unverändert lassen (Grouven et al., 2007).

2.4.3.4 Bland-Altman-Plot

Das Verfahren der Wahl zur Überprüfung der Übereinstimmung zweier unterschiedlicher Messgeräte ist die Methode nach Bland und Altman (Bland and Altman, 1986). Um eine kontinuierliche Verschiebung und damit einen Bias, wie er bei der Korrelation entstehen kann, aufzudecken beziehungsweise zu verhindern, wird die Verzerrung und Streuung der Daten berücksichtigt. Grafisch wird dabei die Differenz der FE_{NO}-Werte beider Geräte für jeden Patienten gegen den Mittelwert beider Messungen aufgetragen. Damit kann man über den gesamten Wertebereich beurteilen, wie nah die Differenz beider Geräte sich um Null bewegt. Zusätzlich sollten bei einer symmetrischen Verteilung der Differenzen 95% der Werte innerhalb von ± 2 Standardabweichungen der Differenzen liegen. Da in dieser Studie die FE_{NO}-Werte nicht normalverteilt waren, wurden die Bland-Altman-Plots mit log-transformierten Werten über die Basis 10 erstellt. Zur anschaulichen Interpretation der Streuung wurde die prozentuale Abweichung der beiden Geräte voneinander mit den Originalwerten berechnet (Grouven et al., 2007).

2.4.3.5 ROC-Analyse

Der Zusammenhang zwischen FE_{NO}-Werten und der Diagnose Asthma wurde mit Kreuztabellen bei verschiedenen cut-off Werten dargestellt. Für jeden cut-off Wert wurden Sensitivität, Spezifität und prädiktive Vorhersagewerte ermittelt. Sensitivität und Spezifität wurden anhand von Receiver operating characteristic (ROC) Kurven aufbereitet. Es kamen zwei Methoden zur Etablierung des jeweils besten cut-off Werts zum Einsatz. Zum Einen wurde dem Youden-Index folgend derjenige FE_{NO}-Wert mit der höchsten Summe aus Sensitivität und Spezifität herangezogen (Youden, 1950), zum Anderen gemäß dem Bayes'schen Theorem ein möglichst hoher positiver prädiktiver Vorhersagewert (PPV) zum Einschluss der Diagnose und ein möglichst hoher negativer prädiktiver Vorhersagewert (NPV) zum Ausschluss der Diagnose Asthma.

3. Ergebnisse

3.1. Beschreibung der Studienpopulation

Es wurden 400 Patienten, die alle Kriterien zur Teilnahme an der Studie erfüllten, bei Erstvorstellung in der pneumologischen Praxis wegen des Verdachts auf eine obstruktive Atemwegserkrankung in die Studie eingeschlossen. Nachträglich mussten sieben Teilnehmer aufgrund unvollständiger Daten ausgeschlossen werden, sodass die abschließenden Analysen die Werte von 393 Patienten umfassen. Die Zahl der Nonresponder - also potentiellen Teilnehmern, die nicht eingeschlossen werden konnten - wurde nicht gesondert erfasst; diese war jedoch auf Grund allgemein guter Akzeptanz und weniger Ausschlusskriterien äußerst gering.

3.1.1. Alter und Geschlecht

Unter den 393 Patienten waren 235 (59,8%) Frauen und 158 (40,2%) Männer (siehe Tabelle 1). Das mittlere Alter der gesamten Studienpopulation lag bei 43,3 Jahren, männliche Teilnehmer waren mit durchschnittlich 42,8 Jahren (SD 16,5) knapp ein Jahr jünger als weibliche mit 43,6 Jahren (SD 16,4). Der Altersunterschied zwischen den beiden Geschlechtern war jedoch nicht signifikant ($p= 0,644$). Die jüngsten Teilnehmer waren in beiden Geschlechtern entsprechend dem festgelegten Mindestalter zur Teilnahme jeweils 18 Jahre alt. Die älteste weibliche Teilnehmerin war 86 Jahre alt, der älteste männliche 84 Jahre.

Geschlecht	gültige n (%)	Alter in Jahren			
		MW	SD	MIN	MAX
weiblich	235 (59,8)	43,6	16,4	18	86
männlich	158 (40,2)	42,8	16,5	18	84
gesamt	393 (100)	43,3	16,4	18	86

Tabelle 1: Alter in Jahren nach Geschlecht (n=393)

3.1.2. Diagnosen

Die Diagnosestellung erfolgte nach eingehender pneumologischer Untersuchung durch eine Fachärztin oder einen Facharzt für Pneumologie in der Praxis Dres. Hellmann, Faderl und Kollegen in Augsburg. 369 (93,9%) Patienten wurden einer Bronchoprovokation unterzogen, 17 (4,3%) einem Bronchodilatationstest (siehe Tabelle 2 und Abbildung 4). Bei 154 (39,2%) Patienten wurde die Diagnose Asthma bronchiale gestellt, davon bei 145 (36,9%) mittels Bronchoprovokation und bei 9 (2,2%) auf der Grundlage des Bronchodilatationstests. Fünf Patienten (1,3%) erhielten die Diagnose einer COPD. Somit summierte sich der Anteil der obstruktiven Atemwegserkrankungen bei der Studienpopulation auf 40,5 Prozent. Von 234 Probanden (59,5%) ohne obstruktive Atemwegserkrankung wurden bei 111 Patienten (28,2%) anderweitige Atemwegserkrankungen festgestellt. Unter ihnen hatten 30 Personen eine bronchiale Hyperreagibilität nach einem respiratorischen Infekt, 28 eine akute Bronchitis, 18 eine gastro-ösophageale Refluxkrankheit, 13 eine restriktive Lungenerkrankung, zehn eine chronische Bronchitis, sechs eine vocal cord dysfunction, fünf einen Husten durch ACE-Hemmer und ein Proband ein Bronchialkarzinom. 123 Teilnehmer (31,3%) gingen aus der Untersuchung ohne atemwegsassozierten Befund hervor. Darunter fielen unter anderem Krankheitsbilder infektiösen, kardialen, muskulo-skeletalen Ursprungs. In dieser Gruppe konnte bei 57 Personen (14,5%) kein pathologischer Befund erhoben werden. Bei 32 (8,1%) Patienten war eine eindeutige diagnostische Kategorisierung auf Basis der Dokumentation nicht ersichtlich und musste in Rücksprache mit den Pneumologen revidiert bzw. endgültig festgelegt werden. Die Verteilung der Patienten ist in dem Flussdiagramm auf der folgenden Seite dargestellt.

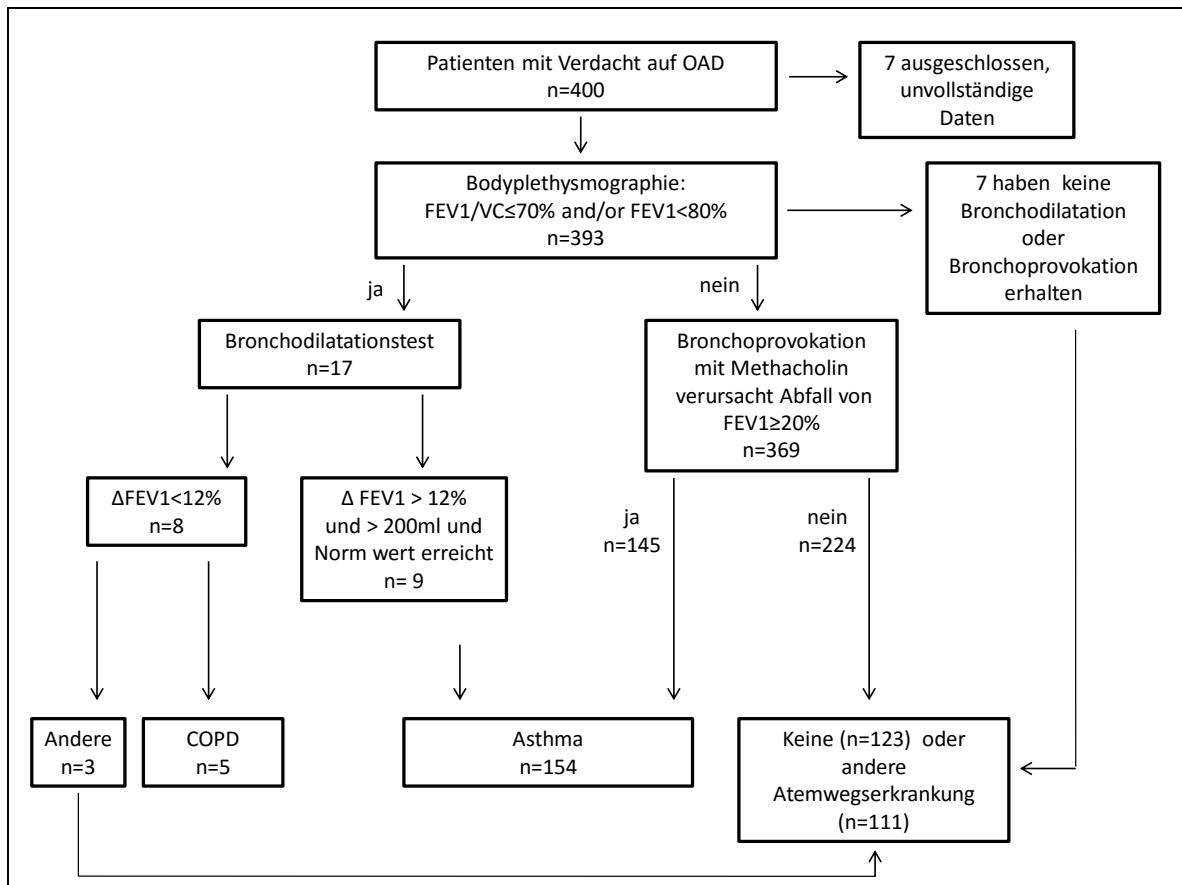


Abbildung 4: Flussdiagramm zu diagnostischen Ergebnissen

3.1.3. Alter und Geschlecht nach Diagnosen

Das durchschnittliche Alter aller Teilnehmer lag bei 43,3 Jahren (SD 16,4). In den einzelnen Diagnosegruppen ergaben sich signifikant unterschiedliche Altersverteilungen (siehe Tabelle 2). Patienten mit der Diagnose Asthma waren mit durchschnittlich 40,5 Jahren (SD 15,4) signifikant jünger als die Studienpopulation. Die Diagnose COPD wurde bei Patienten mit einem Durchschnittsalter von 69,8 Jahren (SD 17,0) gestellt (n= 5). Diese waren somit 29 Jahre älter als Asthma-Patienten und 26 Jahre älter als die gesamte Studienpopulation. COPD-Patienten bildeten die Diagnosegruppe mit dem höchsten mittleren Alter in dem untersuchten Kollektiv. Das niedrigste Durchschnittsalter hatten mit 37,4 Jahren (SD 12,5) Probanden mit einer chronischen, nicht obstruktiven Bronchitis.

Die Verteilung der Geschlechter ergab insgesamt keinen signifikanten Unterschied zwischen den Diagnosegruppen. Die Gruppe der Asthma-Patienten entsprach mit 59,1

Prozent Frauen nahezu der des Gesamtkollektivs (59,8%). Ein höherer Anteil von Patientinnen war bei der Diagnose einer infektbedingten bronchialen Hyperreagibilität festzustellen (73,3%). Eine gastro-ösophageale Refluxkrankheit wurde zumeist bei Frauen diagnostiziert (88,9%).

Die Diagnose einer restriktiven Lungenerkrankung betrifft zu 69,2 Prozent männliche Patienten.

Diagnosen	Häufigkeit n (%)	weiblich (%)	Alter MW (SD)	Alter MIN	Alter MAX
Asthma bronchiale	154 (39,2)	91 (59,1)	40,5 (15,4)	18	81
COPD	5 (1,3)	2 (40,0)	69,8 (17,0)	47	85
infektbedingte BHR	30 (7,6)	22 (73,3)	43,5 (16,2)	19	74
akute Bronchitis	28 (7,1)	17 (60,7)	41,7 (16,3)	18	81
GERD	18 (4,6)	16 (88,9)	52,3 (15,8)	21	75
restriktive Lungenerkrankung	13 (3,3)	4 (30,8)	49,9 (17,3)	18	71
chronische (nicht obstruktive) Bronchitis	10 (2,5)	4 (40,0)	37,4 (12,5)	19	56
vocal cord dysfunction	6 (1,5)	3 (50,0)	54,2 (12,0)	38	73
ACE-Hemmer Husten	5 (1,3)	3 (60,0)	67,6 (5,1)	60	73
Bronchialkarzinom	1 (0,3)	-	49 (-)	-	-
keine Atemwegserkrankung	123 (31,3)	73 (59,3)	43,0 (16,3)	18	86
p-Wert		0,266	<0,001		
Gesamt	393 (100)	235 (59,8)	43,3 (16,4)	18	86

Tabelle 2: Diagnosen nach Alter und Geschlecht (n=393)

Unterschiede zwischen Gruppen mittels Chi-Quadrat Test nach Pearson; Unterschiede der Mittelwerte mittels Kruskal-Wallis Test

3.1.4. Symptome nach Diagnosen

In der Analyse der Symptome in den letzten 12 Monaten vor der Untersuchung, die mit Hilfe eines strukturierten Fragebogens ermittelt wurden, wird die Gruppe der

obstruktiven Atemwegserkrankungen der Gruppe gegenübergestellt, die nicht an obstruktiven Atemwegserkrankungen leidet (siehe Tabelle 3). Darunter finden sich dementsprechend alle anderweitigen erhobenen Diagnosen und als gesund eingestufte Probanden.

Zusätzlich ist die Diagnose der infektiellen BHR angeführt, da sie sich klinisch sehr ähnlich wie ein Asthma bronchiale verhalten kann. Ein pfeifendes Atemgeräusch gaben alle Patienten mit der Diagnose COPD (100%) und 62,9 Prozent der Asthmatiker an. Auch etwa ein Drittel (33,8%) der Patienten ohne OAD führten ein pfeifendes Atemgeräusch in den letzten 12 Monaten an. Bei allen COPD-Patienten (100%) war dieses von Luftnot begleitet, wohingegen nur etwa 72 Prozent der Asthmatiker bei einem pfeifenden Atemgeräusch gleichzeitig Luftnot verspürten. Etwa ein Drittel (30%) der Patienten mit infektieller BHR gab an, anfallsartig an Luftnot zu leiden. Dieses Symptom ist bei Asthmatikern mit 16,8 Prozent und COPD-Patienten mit 20 Prozent deutlich seltener aufgetreten. Unter Anstrengung kam es bei 80 Prozent der COPD-Patienten zu Luftnot. Asthmatiker und Teilnehmer ohne OAD litten mit 53,9 beziehungsweise 46,6 Prozent ähnlich häufig an Atemnot unter starker Anstrengung. Sowohl Asthma-Patienten als auch Patienten mit infektieller BHR beklagten sehr selten Atemnot bei leichter Anstrengung oder in Ruhe. COPD-Patienten gaben zu 40 Prozent Atemnot bei leichter Anstrengung an. Asthmatiker litten in der Gruppe der OAD mit 42,2 Prozent am wenigsten an häufigem Husten gegenüber 60 Prozent der COPD-Patienten und 66,7 Prozent der Patienten mit infektieller BHR. Patienten ohne OAD gaben mit 47,9 Prozent an, häufiger an Husten zu leiden als Asthmatiker. Von den Patienten mit infektieller BHR wachten 90 Prozent wegen Hustens nachts auf. 59,7 Prozent der Asthmatiker, aber auch 57,3 Prozent der Patienten ohne OAD erwachten nachts wegen Husten. Über häufigen Auswurf klagten 60 Prozent der Patienten mit COPD. Probanden mit den Diagnosen Asthma, infektieller BHR und ohne OAD gaben zu weniger als einem Drittel häufigen Auswurf als Symptom der letzten 12 Monate vor der Untersuchung an.

In dem strukturierten Fragebogen wurde auch der aktuelle Gebrauch einer vom Hausarzt verordneten Asthmamedikation ergründet. Drei Patienten (0,8%) gaben an, eine Kombination aus inhalativen Corticoiden und einem lang-wirksamen β -Agonisten einzunehmen. Fünf Patienten (1,3%) hätten laut Fragebogen bei Bedarf kurz-wirksame β -Agonisten und ein Patient (0,2%) einen lang-wirksamen β -Agonisten verordnet bekommen.

Symptome in den letzten 12 Monaten	Asthma n=154 (%)	COPD n=5 (%)	infektbedingte BHR n=30 (%)	keine OAD n=234 (%)	p-Wert
Pfeifendes Atemgeräusch	97 (62,9)	5 (100,0)	12 (40,0)	79 (33,8)	<0,001
Luftnot während pfeifendem Atemgeräusch	70 (45,5)	5 (100,0)	3 (10,0)	34 (14,5)	<0,001
anfallsartige Luftnot	26 (16,8)	1 (20,0)	0 (0,0)	28 (12,7)	0,018
Luftnot bei Anstrengung	66 (42,9)	4 (80,0)	9 (30,0)	92 (41,6)	0,018
Atemnot bei starker Anstrengung	83 (53,9)	3 (60,0)	7 (23,3)	109 (46,6)	0,011
Atemnot bei leichter Anstrengung	26 (16,8)	2 (40,0)	1 (3,3)	29 (12,4)	0,209
Atemnot in Ruhe	14 (9,0)	1 (20,0)	1 (3,3)	25 (10,7)	0,543
Aufwachen wegen Enge in der Brust	54 (35,1)	1 (20,0)	7 (23,3)	59 (25,2)	0,071
Aufwachen wegen Luftnot	35 (22,7)	1 (20,0)	5 (16,7)	28 (12,0)	0,078
häufig Husten	65 (42,2)	3 (60,0)	20 (66,7)	112 (47,9)	0,297
Aufwachen wegen Husten	92 (59,7)	2 (40,0)	27 (90,0)	134 (57,3)	<0,001
häufig Auswurf	44 (28,6)	3 (60,0)	7 (23,3)	58 (24,8)	0,528
Asthmaanfall	11 (7,1)	0 (0,0)	0 (0,0)	6 (2,6)	0,060
Atemwegsinfekte	54 (35,1)	1 (20,0)	11 (36,7)	79 (33,8)	0,109
intermittierend inhalative Medikation	5 (3,2)	0 (0,0)	0 (0,0)	4 (1,7)	0,671

Tabelle 3: Symptome nach Diagnosen; Antworten aus einem strukturierten Fragebogen (n=393)
 Unterschiede zwischen Gruppen mittels Chi-Quadrat Test nach Pearson

3.1.5. Raucher

In dem strukturierten Fragebogen wurden neben den Symptomen und der Medikation derzeitiges und früheres Rauchverhalten erfragt. Zum Untersuchungszeitpunkt rauchten 9,9 Prozent der Teilnehmer aktiv, 35,4 Prozent gaben an, früher geraucht zu haben (siehe Tabelle 4). Unter den COPD-Patienten waren keine aktuellen Raucher mehr zu finden. Ehemals rauchten dagegen 80 Prozent von ihnen. Damit stellt die Diagnose COPD die Gruppe mit dem größten Anteil ehemaliger Raucher unter allen Diagnosegruppen dar. Einen hohen Anteil an ehemaligen Rauchern wies auch die

Gruppe der Patienten mit chronischer, nicht obstruktiver Bronchitis mit 70 Prozent auf. Asthmatiker waren zu 12,3 Prozent aktive und zu 36,4 Prozent einstige Raucher. Die durchschnittliche Zahl an pack years der Gesamtpopulation belief sich auf 4,1 (SD 10,0). COPD-Patienten wiesen mit einem Mittelwert von 17,0 (SD 8,4) die höchste Zahl an pack years auf. Die maximale Anzahl an pack years belief sich unter COPD-Patienten auf 45. Asthma-Patienten hatten durchschnittlich 4,0 pack years (SD 8,4) mit einem Maximum von 55 pack years. Damit liegen sie bezüglich des Rauchverhaltens im Durchschnitt der Gesamtpopulation.

Diagnosen	n Raucher (%)	n ehemalige Raucher (%)	py MW (SD)	py MIN	py MAX
Asthma bronchiale	19 (12,4)	56 (36,4)	4,0 (8,4)	0,0	55,0
COPD	0 (0,0)	4 (80,0)	17,0 (23,3)	0,0	45,0
infektbedingte BHR	2 (6,7)	10 (33,3)	1,9 (4,6)	0,0	16,0
akute Bronchitis	3 (10,7)	7 (25,0)	1,8 (3,9)	0,0	14,4
GERD	3 (16,7)	6 (33,3)	2,7 (8,3)	0,0	35,0
restriktive Lungenerkrankung	1 (7,7)	4 (30,8)	5,5 (10,3)	0,0	30,0
chronische (nicht obstruktive) Bronchitis	2 (20,0)	7 (70,0)	7,6 (11,5)	0,0	36,0
vocal cord dysfunction	0 (0,0)	3 (50,0)	16,4 (32,7)	0,0	82,0
ACE-Hemmer-Husten	0 (0,0)	1 (20,0)	\	\	\
Bronchialkarzinom	1 (100)	0 (0,0)	45,0 (-)	45,0	45,0
keine Atemwegserkrankung	8 (6,5)	41 (33,3)	3,8 (10,2)	0,0	56,3
p-Wert	0,011	0,116	0,131		
Gesamt	39 (9,9)	139 (35,4)	4,1 (10,0)	0,0	82,0

Tabelle 4: Rauchverhalten nach Diagnosen (n=393)

py = pack years; Unterschiede zwischen Gruppen mittels Chi-Quadrat nach Pearson; Unterschiede der Mittelwerte mittels Kruskal-Wallis Test

3.1.6. Lungenfunktion nach Diagnosen

Die Parameter der Lungenfunktion, die Auskunft über eine Obstruktion geben können, waren zwischen den Diagnosegruppen signifikant unterschiedlich (siehe Tabelle 5). Patienten mit der Diagnose Asthma erreichten mit 3,3 Liter (SD 0,9) in der Einsekundenkapazität (FEV₁) und 81,8 Prozent (SD 8,4) in dem Tiffeneau-Quotienten (FEV₁/VC) nur geringfügig niedrigere Werte als Probanden mit infektabedingter BHR und ohne OAD. Sie übertrafen in beiden Kategorien im Mittel die geforderten Sollwerte mit 101,3 beziehungsweise 101,5 Prozent vom Soll. Patienten mit der Diagnose COPD schnitten sowohl in der Einsekundenkapazität als auch in dem Tiffeneau-Quotienten schlechter ab als alle anderen Diagnosegruppen. Im Mittel betrug ihre FEV₁ 1,9 Liter (SD 1,1) und ihr Tiffeneau-Quotient 66,8 Prozent (SD 9,8). Damit blieben sie in beiden Kategorien deutlich unter ihren Sollwerten (74,1% beziehungsweise 66,8%).

Lungenfunktion	Asthma MW (SD)	COPD MW (SD)	infektabedingte BHR MW (SD)	keine OAD MW (SD)	p-Wert
FEV ₁ in Liter	3,3 (0,9)	1,9 (1,1)	3,2 (0,7)	3,4 (1,0)	0,049
FEV ₁ in % vom Soll	101,3 (17,0)	74,1 (12,3)	107,6 (15,0)	107,7 (16,3)	<0,001
FEV ₁ /VC in %	81,8 (8,4)	66,8 (9,8)	86,1 (7,0)	85,6 (7,3)	<0,001
FEV ₁ /VC in % vom Soll	101,5 (10,4)	89,2 (14,5)	107,4 (10,3)	107,1 (8,9)	<0,001

Tabelle 5: Lungenfunktion nach Diagnosen (n=393)

FEV₁: Einsekundenkapazität in Liter

VC: Vitalkapazität

Unterschiede der Mittelwerte mittels Kruskal-Wallis Test

3.1.7. Auskultationsbefund

Die Auskultation im Rahmen der pneumologisch-klinischen Untersuchung ergab die in Tabelle 6 ersichtlichen Befunde: Zwischen den Diagnosegruppen war die Häufigkeit auffälliger Auskultationsbefunde signifikant unterschiedlich. Grundlage hierfür waren vor

allem Auskultationsgeräusche, die auf eine Obstruktion hindeuten. Im Bezug auf Rasselgeräusche war kein signifikanter Unterschied festzustellen. Bei 71 von 392 Patienten (18,1%) wurde ein pathologisches Ergebnis beschrieben. Unter den Asthmatikern hatten 16,9 Prozent eine auffällige Auskultation, jedoch wurde im Einzelnen nur bei jeweils deutlich unter zehn Prozent der Patienten ein Giemen, verlängertes Expirium oder Rasselgeräusche festgestellt. 40 Prozent der COPD-Patienten zeigten einen pathologischen Befund, insbesondere wurde bei 80 Prozent der Patienten ein verlängertes Expirium auskultiert. Bei Probanden ohne OAD wurde zwar in 18,5 Prozent der Fälle die Auskultation als auffällig bewertet, jedoch wurde nur in sehr wenigen Fällen ein diagnostisches Korrelat dafür gefunden.

Auskultation	Asthma (%) n=154	COPD (%) n=5	infektbedingte BHR (%) n=30	keine OAD (%) n=233	p-Wert
auffällig	26 (16,9)	2 (40,0)	3 (10,0)	43 (18,5)	<0,001
Giemen	7 (4,5)	1 (20,0)	0 (0,0)	1 (0,4)	0,015
verlängertes Expirium	8 (5,2)	4 (80)	0 (0,0)	2 (0,9)	<0,001
Rasselgeräusche	5 (3,2)	0 (0,0)	1 (3,3)	3 (1,3)	0,673

Tabelle 6: Auskultationsbefund nach Diagnosen (n=392; fehlende Werte n=1)
Unterschiede zwischen Gruppen mittels Chi-Quadrat-Test nach Pearson

3.2. Genauigkeit der FE_{NO}-Messung mit NIOX MINO[®]

3.2.1. Wiederholungsmessung mit NIOX MINO[®]

Bei 104 Patienten wurde die Messung des FE_{NO} dreimal mit dem Gerät NIOX MINO[®] mit elektrochemischem Sensor durchgeführt, um die Intra-Klassen-Korrelation und damit seine Wiederholungsgenauigkeit zu bestimmen.

Die dreifache Wiederholungsmessung ergab konstante Mittelwerte mit einer Ausdehnung von 26,4 parts per billion (ppb) bei der ersten Messung bis 27,5 ppb bei der dritten Messung (siehe Tabelle 7). Die Mediane bewegten sich in engen Grenzen

von 21,0 ppb bei der ersten bis maximal 22,5 ppb bei der zweiten Messung. Der Median lag beständig bei allen Messungen etwa 5 ppb unter dem jeweiligen Mittelwert. Die Spannweite erstreckte sich auf einen Bereich zwischen 104,0 ppb bei der ersten Messung und 113 ppb bei der dritten Messung.

	MW	SD	Median	MIN	MAX
FE _{NO} NIOX MINO 1	26,4	20,3	21,0	5,0	109,0
FE _{NO} NIOX MINO 2	27,4	20,7	22,5	6,0	112,0
FE _{NO} NIOX MINO 3	27,5	21,0	22,0	5,0	118,0

Tabelle 7: FE_{NO} in ppb; gemessen mit NIOX MINO[®] (n=104)

Der Kolmogorov-Smirnov-Test auf Normalverteilung ergab eine deutliche Abweichung von einer Gaußschen Glockenkurve ($p < 0,001$) (siehe Abbildungen 5-7). Diese Bewertung wird grafisch durch die Histogramme zur Verteilung der FE_{NO}-Messwerte veranschaulicht.

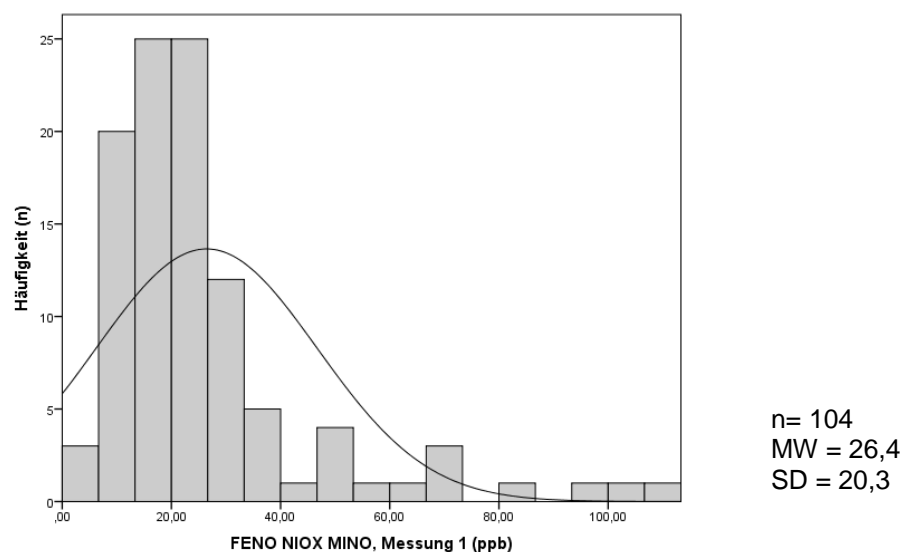


Abbildung 5: Verteilung der FE_{NO}-Messwerte in ppb; erste Messung mit NIOX MINO[®]

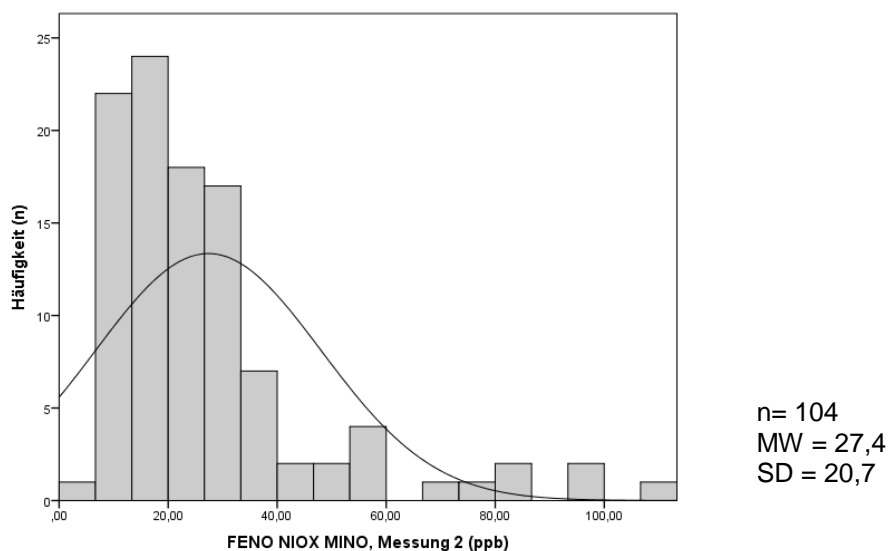


Abbildung 6: Verteilung der FE_{NO} -Messwerte in ppb; zweite Messung mit NIOX MINO[®]

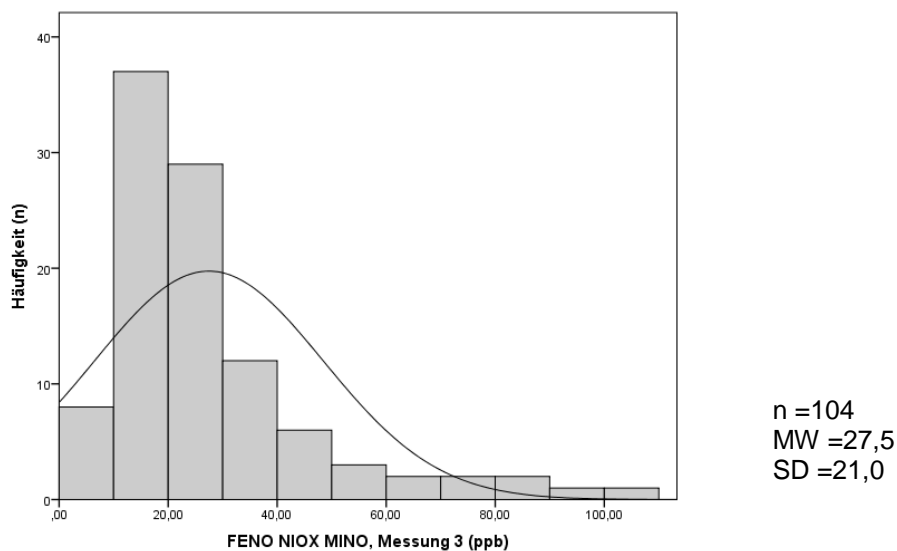


Abbildung 7: Verteilung der FE_{NO} -Messwerte in ppb; dritte Messung mit NIOX MINO[®]

Nach \log_{10} -Transformation der Messwerte erhielt man eine gute Übereinstimmung von Mittelwerten und Median und darüber hinaus durch die fehlende Signifikanz im

Kolmogorov-Smirnov-Test einen weiteren Hinweis auf nunmehr gegebene Normalverteilung der Werte (siehe Abbildungen 8-10, Tabelle 8).

	MW	SD	Median
$\log_{10} \text{FE}_{\text{NO}}$ NIOX MINO 1	1,33	0,27	1,32
$\log_{10} \text{FE}_{\text{NO}}$ NIOX MINO 2	1,34	0,27	1,35
$\log_{10} \text{FE}_{\text{NO}}$ NIOX MINO 3	1,34	0,28	1,34

Tabelle 8: \log_{10} der FE_{NO} -Messwerte mit NIOX MINO[®] (n=104)

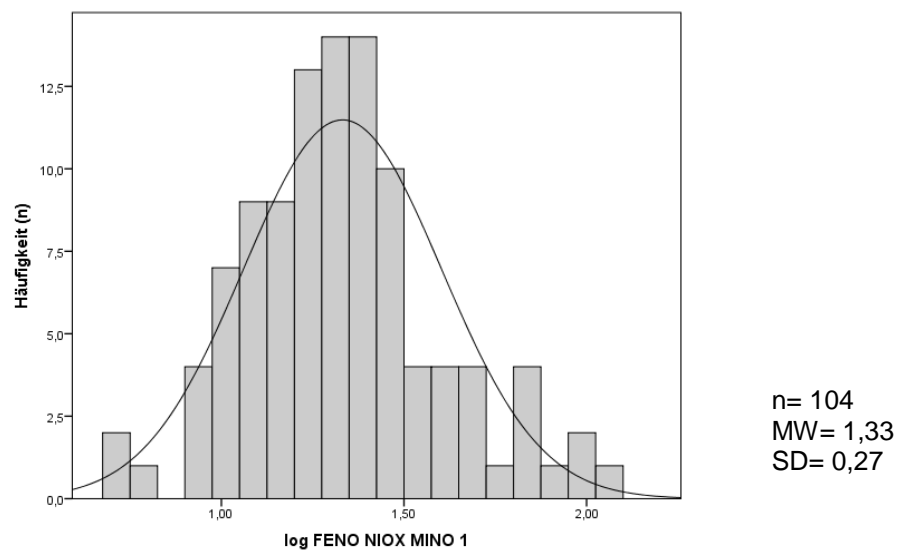


Abbildung 8: Verteilung der FE_{NO} -Messwerte nach \log_{10} -Transformation; erste Messung NIOX MINO[®]

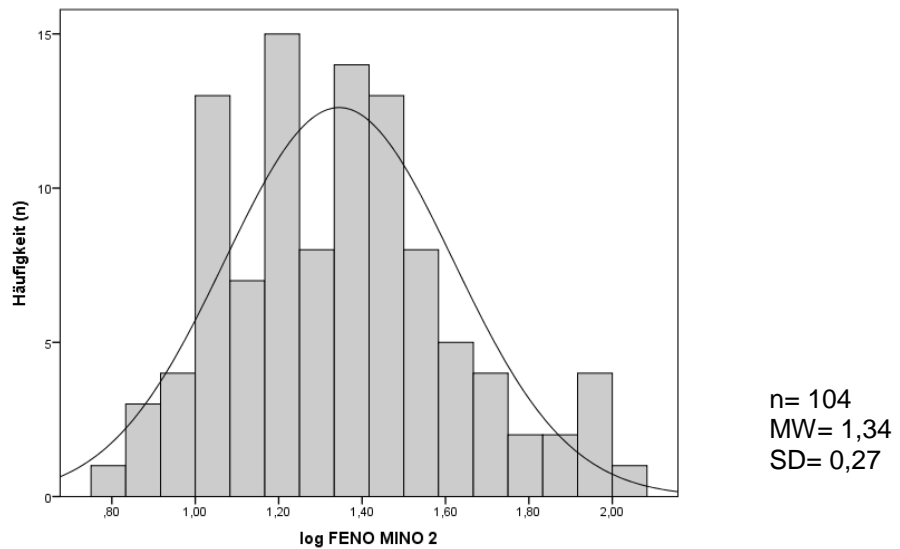


Abbildung 9: Verteilung der FE_{NO} -Messwerte nach \log_{10} -Transformation; zweite Messung NIOX MINO[®]

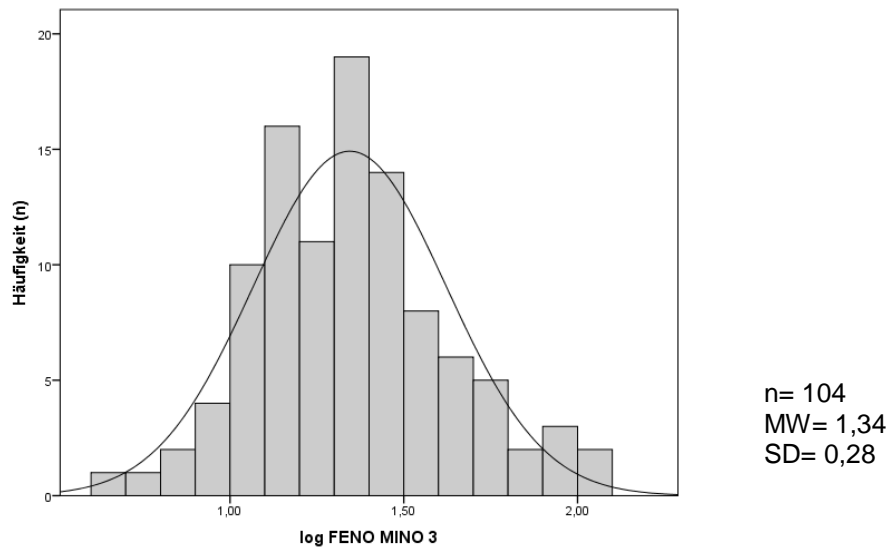


Abbildung 10: Verteilung der FE_{NO} -Messwerte nach \log_{10} -Transformation; dritte Messung NIOX MINO[®]

Ein t-Test für abhängige Stichproben zum Vergleich der drei Messungen mit NIOX MINO[®] ergab für drei wiederholte Messungen mit NIOX MINO[®] keine signifikanten Unterschiede der Mittelwerte der FE_{NO} -Werte. Der p-Wert für den Vergleich von Messung 1 mit Messung 2 lag bei $p = 0,055$, für den Vergleich von Messung 1 mit 3 bei

$p = 0,095$ und für den Vergleich von Messung 2 mit 3 bei $p = 0,971$. Dies liefert einen Anhaltspunkt für die hohe Reproduzierbarkeit der Messwerte mit NIOX MINO[®].

Zu einer orientierenden Einschätzung der Reproduzierbarkeit wurde von den logarithmierten NIOX MINO[®] - Messwerten der Korrelationskoeffizient nach Pearson für gepaarte Stichproben ermittelt. Die Paarung von Messung 1 mit Messung 2 ergab eine Korrelation von $r = 0,968$. Messung 1 gepaart mit Messung 3 wies ein $r = 0,959$ und die Paarung von Messung 2 mit Messung 3 ein $r = 0,977$ auf.

Die Reliabilität, das heißt die Zuverlässigkeit bei wiederholten Messungen mit demselben Gerät an denselben Probanden, wird am besten mit dem Intra-Klassen-Korrelationskoeffizienten abgebildet (Shrout and Fleiss, 1979). Der Intra-Klassen-Korrelationskoeffizient deutete mit einem Wert von 0,969 auf eine sehr gute Reliabilität von FE_{NO}-Messungen mit NIOX MINO[®] hin. Das 95%-Konfidenzintervall erstreckte sich von 0,956 bis 0,978. Zusätzlich wurde noch der mittlere Variationskoeffizient der originalen, nicht-logarithmierten FE_{NO}-Werte ermittelt. Dieser zeigt die relative Streuung der Messwerte an. Er lag bei 8,9% für die drei Messungen mit NIOX MINO[®] mit einer Spannweite von 0-32%.

3.2.2. Übereinstimmung von NIOX MINO[®] und NIOX[®] Flex

Ein bedeutender Nebenaspekt der Studie zielte darauf ab, die Übereinstimmung der FE_{NO}-Werte des tragbaren Gerätes NIOX MINO[®] mit dem stationären, deutlich teureren Gerät NIOX[®] Flex zu überprüfen. In diese Analyse gingen die Messwerte von 95 Patienten ein, von denen jeweils drei erfolgreiche Messungen mit NIOX MINO[®] und je eine mit NIOX[®] Flex (Mittelwert aus drei Einzelmessungen) vorlagen.

Aufgrund der nicht normalverteilten FE_{NO}-Werte wurden alle Berechnungen zu der Übereinstimmung beider Geräte mit \log_{10} -transformierten Werten durchgeführt. Korrelation, lineare Regression und Bland-Altman Plots wurden jeweils mit der ersten NIOX MINO[®]-Messung und dem Mittelwert aus drei Messungen mit NIOX MINO[®] analysiert.

Zunächst wurde zur Identifikation von Faktoren, die einen Einfluss auf die Übereinstimmung der beiden Geräte haben können, in einer linearen Regression die Differenz der klinisch relevanten ersten Messung mit NIOX MINO[®] und der Messung mit NIOX[®] Flex als abhängige Größe gegen Alter, Größe, Geschlecht, Rauchen, allergische Rhinitis und Infekt der Atemwege als unabhängige Größen berechnet (siehe Tabelle 9 und Abbildung 11 und 12). Diese Faktoren wurden von Karrasch et al. und Dressel et

al. als potentielle Störfaktoren ermittelt (Dressel et al., 2008, Karrasch et al., 2011). Hierbei wies lediglich der Faktor „Alter“ einen signifikanten, wenn auch schwachen Zusammenhang auf ($R^2= 0,093$; $p= 0,003$). Es zeigte sich, dass bei jüngeren Probanden tendenziell NIOX MINO[®] bei Einzelmessungen ein wenig höhere Messwerte erzielt, bei älteren jedoch NIOX[®] Flex etwas höher misst. Betrachtete man jedoch die lineare Regression des Mittelwerts aus drei Messungen mit NIOX MINO[®] gegen NIOX[®] Flex, war keine Signifikanz mehr nachweisbar ($R^2= 0,029$; $p= 0,097$). Bei allen anderen genannten Parametern deuteten sehr niedrige R^2 -Werte und die fehlende Signifikanz bei einer einzelnen Messung mit NIOX MINO[®] darauf hin, dass sie die Übereinstimmung der beiden Messgeräte selbst bei einer einzelnen Messung mit NIOX MINO[®] nicht beeinflussen dürften.

In einem linearen Regressionsmodell mit Interaktionsanalyse zur Untersuchung einer möglichen Beeinflussung des Alters durch Geschlecht oder Größe zeigte sich kein signifikanter Zusammenhang zwischen diesen Variablen (Alter vs. Größe: $p=0,288$; Alter vs. Geschlecht: $p= 0,236$).

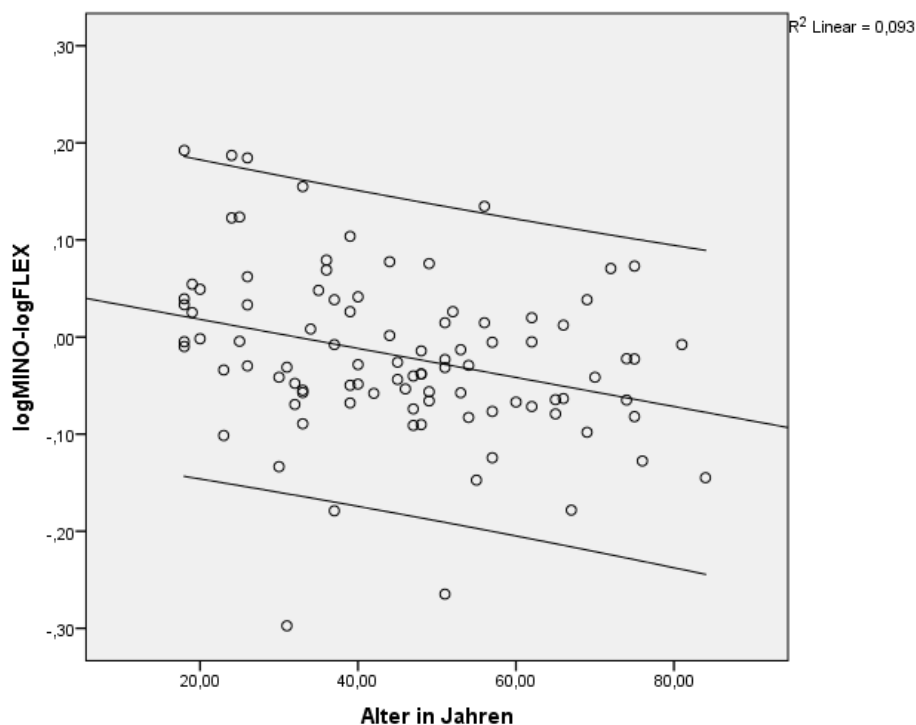


Abbildung 11: lineare Regression; Differenz von erster Messung mit NIOX MINO[®] und Messung mit NIOX[®] Flex (\log_{10}) gegen das Alter (in Jahren) (n=95)

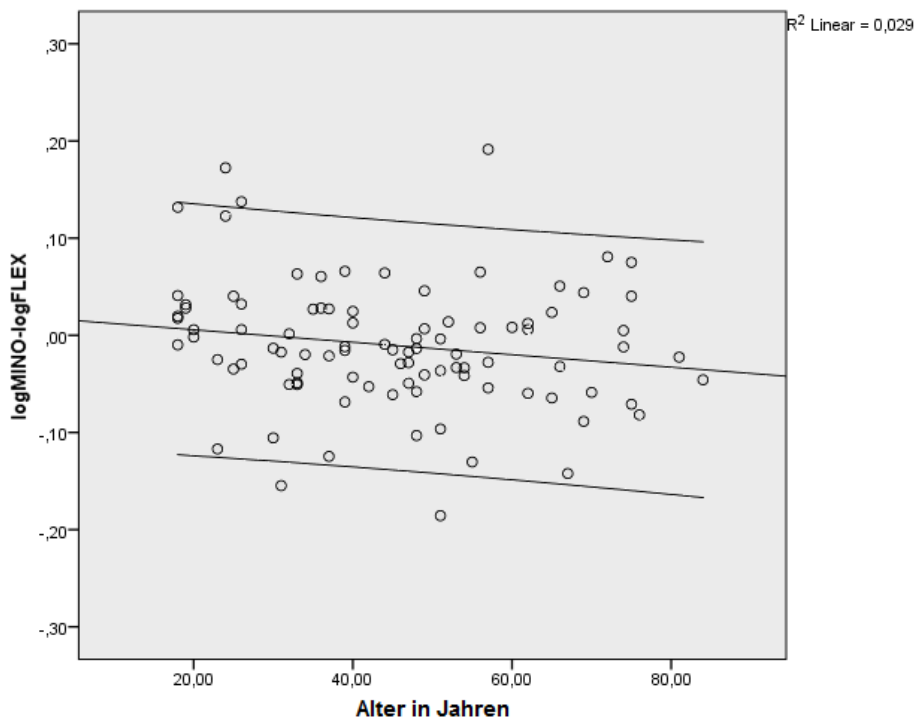


Abbildung 12: lineare Regression; Differenz des Mittelwerts aus drei Messungen mit NIOX MINO® und Messung mit NIOX® Flex (log₁₀) gegen das Alter (in Jahren) (n=95)

abhängige Variable	unabhängige Variable	R ²	Beta	p-Wert
Δ MINO log-Flex log	Alter	0,093	-0,305	0,003
Δ MINO log-Flex log	Größe	0,003	-0,058	0,574
Δ MINO log-Flex log	Geschlecht	0,016	-0,126	0,225
Δ MINO log-Flex log	Raucher	0,004	0,062	0,550
Δ MINO log-Flex log	allergische Rhinitis	0,001	-0,039	0,711
Δ MINO log-Flex log	Atemwegsinfekt	0,010	-0,102	0,328

Tabelle 9: lineare Regression; Differenz der ersten Messung mit NIOX MINO®-NIOX® Flex vs. beeinflussende Parameter (n=95)

Δ MINO log-Flex log: Differenz zwischen NIOX MINO® und NIOX® Flex logarithmiert
 Alter: in Jahren, Geschlecht: weiblich vs. männlich, Raucher: Raucher vs. Nichtraucher
 Allergie: gehäuft allergische Rhinitis vs. nicht gehäuft allergische Rhinitis
 Atemwegsinfekt: gehäuft Atemwegsinfekte vs. nicht gehäuft Atemwegsinfekte

Um die Übereinstimmung orientierend einzuschätzen wurde der Korrelationskoeffizient nach Pearson berechnet (siehe Tabelle 10). Für alle Probanden, von denen je drei Messungen mit NIOX MINO[®] und eine mit NIOX[®] Flex vorhanden waren, lag dieser bei $r = 0,954$ (erste Messung mit NIOX MINO[®], $n=95$) beziehungsweise $r = 0,974$ (Mittelwert aus drei NIOX MINO[®]-Messungen, $n=95$). Für Probanden im Alter bis einschließlich 45 Jahre betrug $r = 0,951$ (erste Messung mit NIOX MINO[®], $n=48$) und $r = 0,976$ (Mittelwert aus drei NIOX MINO[®]-Messungen, $n=48$). Für die Gruppe der über 45-Jährigen errechneten sich Werte von $r = 0,964$ (erste Messung mit NIOX MINO[®], $n=47$) und $r = 0,971$ (Mittelwert aus drei NIOX MINO[®]-Messungen, $n=47$). Unter Probanden mit einem FE_{NO}-Wert von höchstens 20 ppb erreichten beide Geräte eine Korrelation von $r = 0,770$ (erste Messung mit NIOX MINO[®], $n=44$) und $r = 0,886$ (Mittelwert aus drei NIOX MINO[®]-Messungen, $n=44$). Diejenigen mit FE_{NO} über 20 ppb wiesen Werte von $r = 0,953$ (erste Messung mit NIOX MINO[®], $n=51$) beziehungsweise $r = 0,966$ (Mittelwert aus drei NIOX MINO[®]-Messungen, $n=51$) auf. Die Korrelationen waren für alle genannten Gruppen hoch signifikant ($p < 0,001$).

Gruppen	n	Korrelationskoeffizient nach Pearson r
alle Patienten, 1.Messung NIOX MINO	95	0,954 ($p < 0,001$)
alle Patienten, MW NIOX MINO	95	0,974 ($p < 0,001$)
≤ 45 Jahre, 1.Messung NIOX MINO	48	0,951 ($p < 0,001$)
≤ 45 Jahre, 1.Messung NIOX MINO	48	0,976 ($p < 0,001$)
> 45 Jahre, 1.Messung NIOX MINO	47	0,964 ($p < 0,001$)
> 45 Jahre, MW NIOX MINO	47	0,971 ($p < 0,001$)
FE _{NO} ≤ 20 ppb, 1.Messung NIOX MINO	44	0,770 ($p < 0,001$)
FE _{NO} ≤ 20 ppb, MW NIOX MINO	44	0,886 ($p < 0,001$)
FE _{NO} > 20 ppb, 1.Messung NIOX MINO	51	0,953 ($p < 0,001$)
FE _{NO} > 20 ppb, MW NIOX MINO	51	0,966 ($p < 0,001$)

Tabelle 10: Korrelationskoeffizienten nach Pearson für NIOX MINO[®] und NIOX[®] Flex (n=95)

MW: Mittelwert aus drei Messungen mit NIOX MINO[®]

Auch eine lineare Regression zeigte eine hohe Kongruenz der Messwerte zwischen NIOX MINO[®] und NIOX[®] Flex mit $R^2 = 0,910$ für die erste Messung mit NIOX MINO[®] und $R^2 = 0,948$ für den Mittelwert aus drei Messungen mit NIOX MINO[®] (siehe Abbildungen 13 und 14).

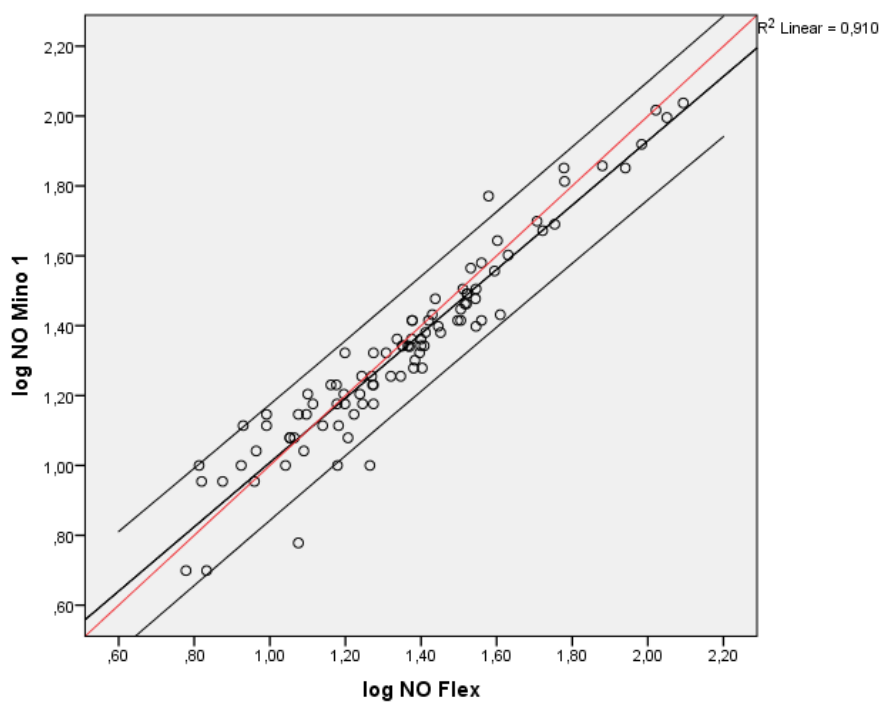


Abbildung 13: lineare Regression; erste Messung NIOX MINO[®] gegen NIOX[®] Flex mit 95% KI (n=95)

log NO Mino 1: \log_{10} der ersten Messung mit NIOX MINO[®]

log NO Flex: \log_{10} des Messwerts mit NIOX[®] Flex

Winkelhalbierende in rot dargestellt

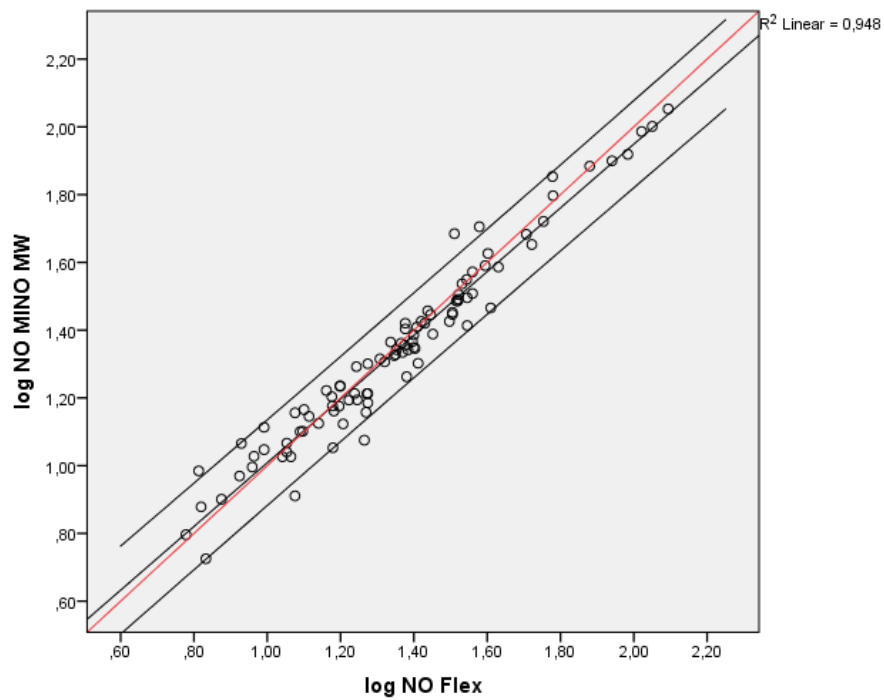


Abbildung 14: lineare Regression; Mittelwert NIOX MINO[®] gegen NIOX[®] Flex mit 95% KI (n=95)
 log NO Mino MW: \log_{10} des Mittelwerts aus drei Messungen mit NIOX MINO[®]
 log NO Flex: \log_{10} des Messwerts mit NIOX[®] Flex
 Winkelhalbierende in rot dargestellt

Zur Abbildung der Verzerrung und Streuung wurden Bland-Altman-Plots angefertigt (siehe Abbildungen 15 und 16). Grafisch zeigte sich eine gute Übereinstimmung der beiden Geräte mit wenigen Ausreißern außerhalb der Übereinstimmungsgrenzen von ± 2 Standardabweichungen. Betrachtete man isoliert die Messwerte im Bereich unter 20 ppb ($10^{1,3}$), so war bei einer größeren Standardabweichung ein breiteres Konfidenzintervall zu erkennen. Jedoch wiesen die mittleren Differenzen zwischen beiden Geräten im Bereich über und unter 20 ppb in einem t-Test keinen signifikanten Unterschied auf ($p= 0,139$).

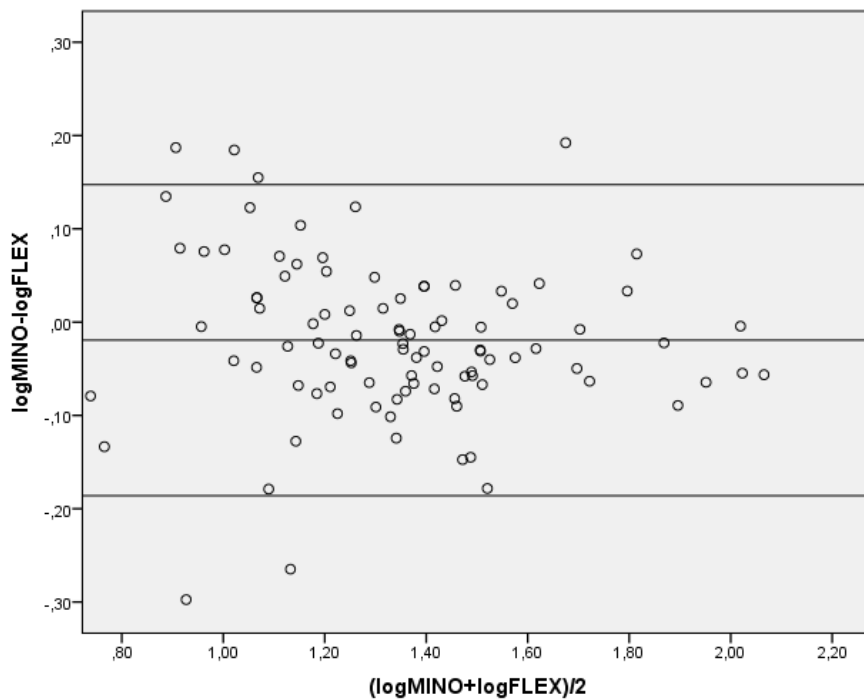


Abbildung 15: Bland-Altman-Plot; erste Messung NIOX MINO[®] vs. NIOX[®]Flex (n=95)
 y-Achse: Differenz der log₁₀-Werte der ersten Messung mit NIOX MINO[®] und der Messung mit NIOX[®]Flex
 x-Achse: Mittelwert aus den log₁₀-Werten der ersten Messung mit NIOX MINO[®] und der Messung mit NIOX[®]Flex

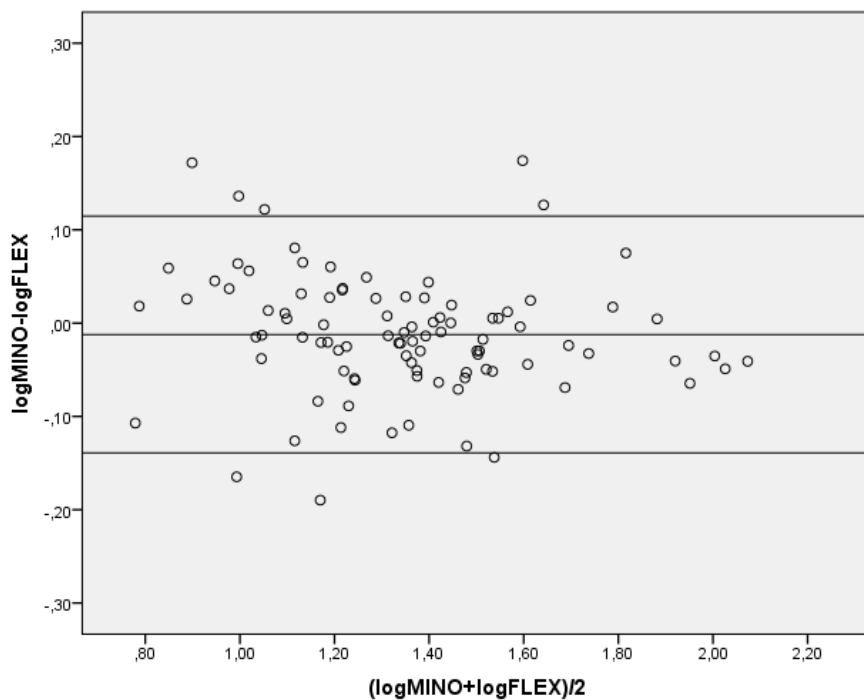


Abbildung 16: Bland-Altman-Plot; Mittelwert aus drei Messungen mit NIOX MINO[®] vs. NIOX[®]Flex (n=95)
 y-Achse: Differenz der log₁₀-Werte des Mittelwerts aus drei Messungen mit NIOX MINO[®] und der Messung mit NIOX[®]Flex
 x-Achse: Mittelwert aus den log₁₀-Werten des Mittelwerts aus drei Messungen mit NIOX MINO[®] und der Messung mit NIOX[®]Flex

Zur anschaulicheren klinischen Interpretation und zur genaueren Einschätzung, wie groß die Unterschiede der Messwerte ausfielen, wurde die prozentuale Abweichung von NIOX MINO[®] im Vergleich zu NIOX[®] Flex für die originalen FE_{NO}-Werte berechnet (siehe Tabelle 11). Im Mittel waren die Messwerte mit NIOX MINO[®] für alle 95 Patienten 6,6% (erste Messung mit NIOX MINO[®]) beziehungsweise 3,5% (Mittelwert aus drei Messungen mit NIOX MINO[®]) niedriger als mit NIOX[®] Flex. 95% der Messwerte mit NIOX MINO[®] waren zwischen 11,0% und 2,2% niedriger als mit NIOX[®] Flex (erste Messung mit NIOX MINO[®]). Für den Mittelwert aus drei Messungen mit NIOX MINO[®] ergab sich ein 95%-Konfidenzintervall von 6,7% bis 0,4% niedrigerer Messwerte. Jüngere Patienten bis 45 Jahre wiesen im Mittel etwa gleich hohe FE_{NO}-Werte mit beiden Geräten auf. In dieser Gruppe maß NIOX MINO[®] im Durchschnitt etwa 1% niedriger als NIOX[®] Flex. In der Gruppe der über 45-Jährigen maß NIOX MINO[®] durchschnittlich 12,1% (erste Messung mit NIOX MINO[®]) beziehungsweise 6,2% (Mittelwert aus drei Messungen mit NIOX MINO[®]) niedriger als NIOX[®] Flex. Bei niedrigen FE_{NO}-Werten bis 20 ppb waren die Messwerte mit NIOX MINO[®] 6,4% (erste Messung mit NIOX MINO[®]) beziehungsweise 2,9% (Mittelwert aus drei Messungen mit NIOX MINO[®]) niedriger als mit NIOX[®] Flex. In dieser Gruppe war jedoch ein breiteres Konfidenzintervall zu erkennen, welches die Null und damit eine perfekte Übereinstimmung mit einschloss und von 14,8% (erste Messung mit NIOX MINO[®]) (8,4% für den Mittelwert aus drei Messungen mit NIOX MINO[®]) niedrigeren bis zu 1,9% (erste Messung mit NIOX MINO[®]) (2,6% für den Mittelwert aus drei Messungen mit NIOX MINO[®]) höheren Werten mit NIOX MINO[®] reichte. Im Bereich über 20 ppb lagen die mittleren FE_{NO}-Werte von NIOX MINO[®] 6,7% (erste Messung mit NIOX MINO[®]) (4,1% für den Mittelwert aus drei Messungen mit NIOX MINO[®]) unter denen von NIOX[®] Flex, wobei 95% der Messwerte des NIOX MINO[®] zwischen 11,0% (erste Messung mit NIOX MINO[®]) (7,6% für den Mittelwert aus drei Messungen mit NIOX MINO[®]) und 2,5% (erste Messung mit NIOX MINO[®]) (0,1% für den Mittelwert aus drei Messungen mit NIOX MINO[®]) niedriger ausfielen.

Gruppen	n	mittlere Abweichung von NIOX MINO im Bezug auf NIOX FLEX in % (95%KI)
alle Patienten, 1.Messung NIOX MINO	95	- 6,6 (-11,0;-2,2)
alle Patienten, MW NIOX MINO	95	- 3,5 (-6,7;-0,4)
≤ 45 Jahre, 1.Messung NIOX MINO	48	- 1,1 (-7,8;5,5)
≤ 45 Jahre, MW NIOX MINO	48	- 1,0 (-5,3;3,4)
> 45 Jahre, 1.Messung NIOX MINO	47	- 12,1 (-17,7;-6,6)
> 45 Jahre, MW NIOX MINO	47	- 6,2 (-10,7;-1,6)
FE _{NO} ≤ 20 ppb, 1.Messung NIOX MINO	44	- 6,4 (-14,8;1,9)
FE _{NO} ≤ 20 ppb, MW NIOX MINO	44	- 2,9 (-8,4;2,6)
FE _{NO} > 20 ppb, 1.Messung NIOX MINO	51	- 6,7 (-11,0;-2,5)
FE _{NO} > 20 ppb, MW NIOX MINO	51	- 4,1 (-7,6;-0,1)

Tabelle 11: mittlere Abweichung der Messwerte mit NIOX MINO[®] von den Messwerten mit NIOX[®] FLEX (n=95)

MW: Mittelwert aus drei Messungen mit NIOX MINO[®]

3.3. Diagnostischer Wert von FE_{NO}-Messung und Sputumzytologie

3.3.1. Verteilung der FE_{NO}-Werte

In diese Analyse gingen die Messwerte von 393 Patienten ein, von denen jeweils eine gültige Messung mit NIOX MINO[®] durchgeführt werden konnte.

Der Mittelwert der FE_{NO}-Messungen bei allen Patienten betrug 29,9 ppb mit einer Standardabweichung von 33,2 ppb (siehe Tabelle 12). Durch die in dem Histogramm ersichtliche nicht normal verteilte Verschiebung nach links in Richtung niedriger FE_{NO}-Werte mit vereinzelt sehr hohen FE_{NO}-Werten lag der Median mit 20,0 ppb deutlich unter dem Mittelwert (Abbildung 17). Mit einer Wahrscheinlichkeit von 95% lag der

wahre Mittelwert der FE_{NO}-Messung zwischen 26,6 und 33,2 ppb (95% KI). Bei Messwerten zwischen 5,0 und 239,0 ppb resultierte eine Spannweite von 234 ppb. Die Durchführung eines Kolmogorov-Smirnov-Tests ergab eine deutliche Abweichung der FE_{NO}-Werte von einer Normalverteilung, sodass für statistische Tests mit log₁₀-transformierten FE_{NO}-Werten gerechnet wurde.

	MW	SD	95% KI	Median	MIN	MAX
FE _{NO} NIOX MINO [®] (ppb)	29,9	33,2	26,6 - 33,2	20,0	5,0	239,0

Tabelle 12: FE_{NO}-Messwerte in ppb; eine Messung mit NIOX MINO[®] (n=393)

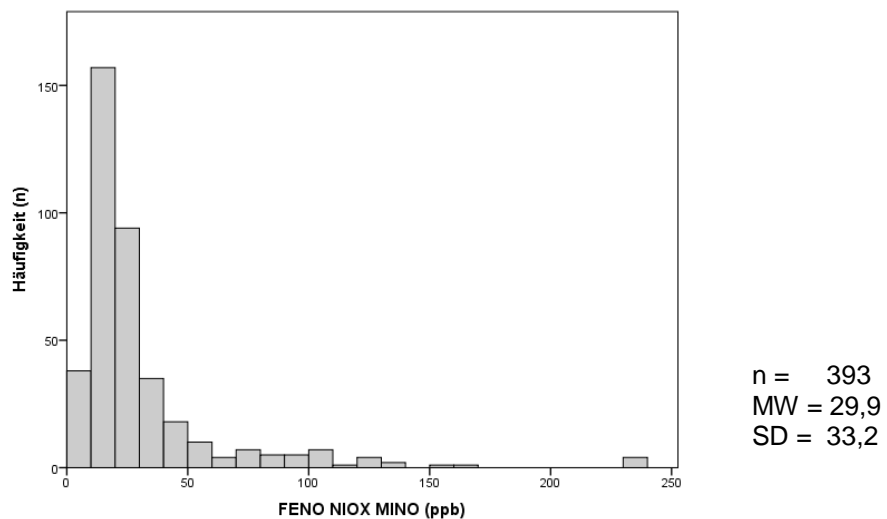


Abbildung 17: Verteilung der FE_{NO}-Messwerte bei allen Patienten; eine Messung mit NIOX MINO[®]

3.3.2. FE_{NO}-Werte nach Diagnosen

Die Analyse der FE_{NO}-Werte in den jeweiligen Diagnosegruppen gliederte sich in Asthmatiker, COPD-Patienten und Probanden ohne obstruktive Atemwegserkrankung (siehe Tabelle 13). Die FE_{NO}-Mittelwerte unterschieden sich signifikant zwischen den Diagnosegruppen. Asthmatiker wiesen mit durchschnittlich 42,4 ppb die höchsten mittleren FE_{NO}-Werte unter allen Diagnosegruppen auf. Ihr Median war allerdings wegen einzelner Ausreißer mit extrem hohen Werten mit 24,5 ppb deutlich niedriger. Selbst unter Bezugnahme auf den Median wiesen Asthmatiker jedoch höhere Werte als alle anderen Probanden auf. Auch die Spannweite der Messwerte war bei Patienten mit der Diagnose Asthma am höchsten. Patienten mit COPD hatten die niedrigsten FE_{NO}-Mittelwerte.

Zur Veranschaulichung der Messwert-Unterschiede wurden Box-Whisker-Plots erstellt (siehe Abbildung 18). Bei COPD-Patienten resultierte aus lediglich fünf Messwerten eine sehr schmale Box, die nur geringfügig um den Median schwankte. Bei der Box der Diagnose Asthma fiel auf, dass der Median etwas höher lag als bei den Boxen der anderen Diagnosen. Er war innerhalb der Box nach unten verschoben. Das bedeutet, dass 25% der Messwerte, die den Anteil der Box unter dem Median ausmachen, enger nebeneinander lagen, als die oberen 25% der Messwerte, die dem Teil der Box über dem Median entsprechen. Auch die Antennen, deren Abstand 95% der Messwerte entspricht, waren zu höheren Werten hin verschoben. Zudem waren einige sehr hohe Messwerte zu erkennen, die durch Kreise (1,5- bis 3-fache Boxlänge Abstand) und Sterne (>3-fache Boxlänge Abstand) dargestellt werden. Es lässt sich ableiten, dass bei Asthmatikern die unteren 50% der Messwerte in einem sehr engen Bereich lagen, die oberen 50% jedoch in einem sehr weiten Bereich streuten. In der Gruppe der nicht obstruktiven Atemwegserkrankungen war die Verteilung der FE_{NO}-Werte leichtgradig zu höheren Messwerten hin verschoben, allerdings lagen alle Messwerte in einem deutlich engeren Messbereich als bei Asthmatikern.

FENO (ppb)	MW	SD	95% KI	Median	MIN	MAX
Asthma bronchiale (n=154)	42,4	46,4	35,0 - 49,8	24,5	5,0	239,0
COPD (n=5)	16,6	6,8	8,2 - 25,0	16,0	7,0	26,0
keine obstruktive Atemwegserkrankung (n=234)	22,0	16,5	19,8 - 24,1	17,5	5,0	109,0
p-Wert	<0,001					

Tabelle 13: FE_{NO}-Messwerte nach Diagnosen; eine Messung mit NIOX MINO[®] (n=393)
 Unterschiede der Mittelwerte mittels Kruskal-Wallis Test

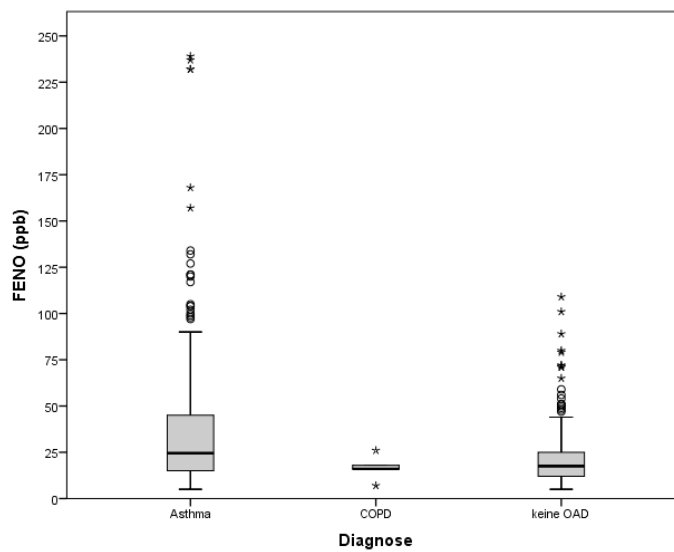


Abbildung 18: Box-Whisker-Plot; Verteilung der FE_{NO}-Messwerte nach Diagnosen; eine Messung mit NIOX MINO[®] (n=393)

3.3.3. Störfaktoren der FE_{NO}-Messung

Dressel et al. (Dressel et al., 2008) und Karrasch et al. (Karrasch et al., 2011) haben in ihren Arbeiten zur Analyse von Einflussfaktoren auf FE_{NO}-Werte Formeln entwickelt, die eine Anpassung der Messwerte ermöglichen. Auf Basis dieser beiden Arbeiten wurden die FE_{NO}-Werte der vorliegenden Studie auf einen möglichen Einfluss der Faktoren Rauchen, Atemwegsinfekt, Allergie der Atemwege, Alter, Größe und Geschlecht hin untersucht. Bei den intervallskalierten Parametern Alter und Größe wurde jeweils der Anteil unter dem Median mit dem über dem Median verglichen. Letztlich wirkten lediglich die Faktoren Geschlecht und das Vorliegen einer Allergie der Atemwege bei der vorliegenden Studienpopulation einen Einfluss auf die FE_{NO}-Messwerte aus. Männer wiesen mit durchschnittlich 34,5 ppb (95%KI 28,3-40,7 ppb) höhere Werte auf als Frauen mit mittleren 26,8 ppb (95%KI 23,3-30,4 ppb) ($p= 0,035$; t-Test). Allergiker hatten im Mittel Werte von 42,5 ppb (95%KI 34,5-50,6) gegenüber Probanden ohne Allergie mit durchschnittlich 24,0 ppb (95%KI 21,0-27,0 ppb) ($p< 0,001$; t-Test). Bei den übrigen Faktoren konnten keine signifikanten Unterschiede des Mittelwerts festgestellt werden.

3.3.4. Sputumzytologie

Tabelle 14 illustriert die Verteilung der Zellmuster in der Sputumzytologie nach den jeweiligen Diagnosegruppen. 128 (32,6%) Patienten sendeten eine verwertbare Probe von spontanem, morgendlichem Sputum ein. 50 (39,1%) unter ihnen wiesen in der semiquantitativen Analyse vermehrt Eosinophile auf. 19 (14,8%) der Probanden zeigten ein überwiegend neutrophiles Muster, lediglich ein Proband (0,8%) hatte eine lymphozytäre Entzündung. Die restlichen 58 Einsender (45,3%) hatten überwiegend unverdächtige Zellen des aerodigestiven Traktes in ihrem Sputum. Unter den Probanden mit eosinophiler Entzündung hatten 26 (52,0%) Asthma, einer (2,0%) COPD und 23 (46,0%) keine obstruktive Atemwegserkrankung. Fünf (26,3%) der Probanden mit neutrophilem Muster waren Asthmatiker, 14 (73,7%) hatten keine obstruktive Atemwegserkrankung. Der einzige Patient (1,9%) mit einer lymphozytären Entzündung war Asthmatiker. 22 (37,9%) der Patienten mit normalem Zellmuster des aerodigestiven Trakts hatten Asthma, 36 (61,0) hatten keine obstruktive Atemwegserkrankung. Insgesamt hatten 54 (42,2%) der Probanden mit abgegebener Sputumprobe Asthma,

einer (0,8%) COPD und 73 (57,0%) keine obstruktive Atemwegserkrankung. In einem Chi-Quadrat-Test ergab sich kein signifikanter Unterschied hinsichtlich Diagnosen und Entzündungsmuster ($p= 0,261$).

Sputum, Zellen	n (%)	Asthma (%)	COPD (%)	keine OAD (%)
eosinophil	50 (39,1)	26 (52,0)	1 (2,0)	23 (46,0)
neutrophil	19 (14,8)	5 (26,3)	0 (0,0)	14 (73,3)
lymphozytär	1 (0,8)	1 (1,9)	0 (0,0)	0 (0,0)
aerodigestiv	58 (45,3)	22 (37,9)	0 (0,0)	36 (61,0)
p-Wert		0,261		
Gesamt	128	54	1	73

Tabelle 14: Zusammenhang zwischen Sputumzellen und Diagnosen; Anzahl n; Prozentwert in Klammern (n=128)
 Unterschiede zwischen Gruppen mittels Chi-Quadrat-Test nach Pearson

In Tabelle 15 und Abbildung 19 wird die Höhe der FE_{NO}-Werte in Bezug auf die Zellmuster ersichtlich. Betrachtete man die FE_{NO}-Verteilung, so fiel auf, dass die Mittelwerte von Asthmatikern mit Eosinophilen mit 59,9 ppb deutlich höher lagen als von Patienten mit Eosinophilen, aber ohne obstruktive Atemwegserkrankung (28,3 ppb). Unter Probanden mit Neutrophilen wiesen Asthmatiker im Mittel mit 17,4 ppb etwas niedrigere Werte als Probanden ohne obstruktive Atemwegserkrankung auf (18,9 ppb). Insgesamt ging eine neutrophile Inflammation mit den niedrigsten FE_{NO}-Werten aller Entzündungsmuster einher. In der Gruppe mit normalen Zellen des aerodigestiven Trakts hatten Asthmatiker mit 34,0 ppb etwa doppelt so hohe FE_{NO}-Mittelwerte wie Probanden ohne obstruktive Atemwegserkrankung mit 16,4 ppb. Die Unterschiede der FE_{NO}-Mittelwerte zwischen den Entzündungsmustern unter allen Probanden mit einer Sputumprobe waren in einem Kruskal-Wallis-Test ebenso signifikant ($p= 0,001$) wie unter Asthmatikern ($p= 0,012$). Zwischen Probanden ohne obstruktive Atemwegserkrankung bestanden keine signifikanten Mittelwertsunterschiede ($p= 0,100$) (jeweils unter Ausschluss des einen Probanden mit lymphozytärer Entzündung).

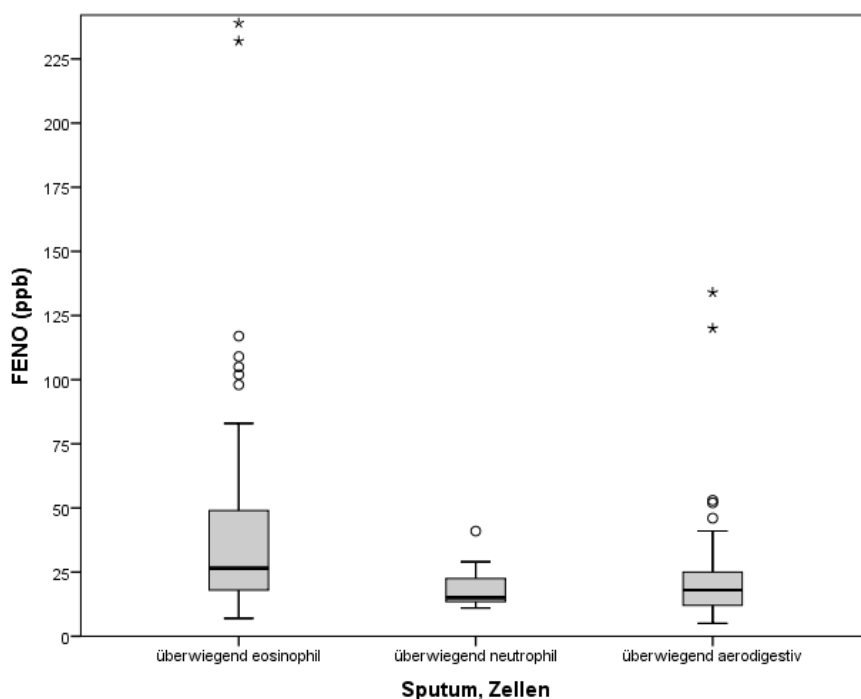


Abbildung 19: Box-Whisker-Plot; FE_{NO}-Werte nach Zellmustern in der Sputumprobe (n=128)

Sputum, Zellen	Gesamt n=128 MW FE _{NO} (SD)	Asthma n=54 MW FE _{NO} (SD)	COPD n=1 MW FE _{NO} (SD)	keine OAD n=73 MW FE _{NO} (SD)	p-Wert
eosinophile Zellen	44,3 (48,9)	59,9 (60,3)	-	28,3 (24,0)	0,008
neutrophile Zellen	18,5 (7,7)	17,4 (3,4)	-	18,9 (8,8)	0,676
lymphozytäre Zellen	27,0 (-)	27,0 (-)	-	-	-
aerodigestive Zellen	23,1 (22,6)	34,0 (33,2)	-	16,4 (7,0)	0,009

Tabelle 15: Zusammenhang zwischen Sputumzellen und FE_{NO}; Mittelwerte von FE_{NO} in ppb; Standardabweichung in Klammern (n=128)

Unterschiede der Mittelwerte mittels Kruskal-Wallis Test

3.3.5. Diagnostischer Wert von FE_{NO} bei allen Patienten

Zuerst wurde die diagnostische Genauigkeit bei allen 393 Patienten ermittelt, ohne das Zellmuster der Sputumprobe zu berücksichtigen. Sie lässt sich graphisch sehr anschaulich durch eine „Receiver Operating Characteristic“ (ROC)-Analyse darstellen (siehe Abbildung 20). Darin wird in einem Diagramm die Sensitivität eines jeden Probanden auf der y-Achse gegen den Reziprokwert der Spezifität eines jeden Probanden auf der x-Achse aufgetragen. Der Graph eines perfekten diagnostischen Tests würde die linke obere Ecke des Diagramms erreichen. Das würde bedeuten, dass er alle richtig positiven Ergebnisse erkennt und keine falsch positiven Ergebnisse entstehen würden. Wenn hingegen, als extremes Gegenteil, der Graph eine Winkelhalbierende darstellt, bedeutet dies, dass der Test nicht zwischen Probanden mit und ohne Erkrankung unterscheiden kann. Die „area under the curve“ stellt den beschriebenen Zusammenhang als Zahlenwert dar. Eine AUC von 1,0 steht für einen perfekten diagnostischen Test, wohingegen ein Test, der nicht zwischen Probanden mit und ohne Diagnose unterscheiden kann, eine AUC von 0,5 aufweist (Linden, 2006). In der vorliegenden Studie wurde bei allen 393 Patienten in einer ROC-Analyse für die diagnostische Güte von FE_{NO} bezüglich der Diagnose Asthma eine AUC von 0,656 (95% KI 0,600-0,712; $p < 0,001$) ermittelt.

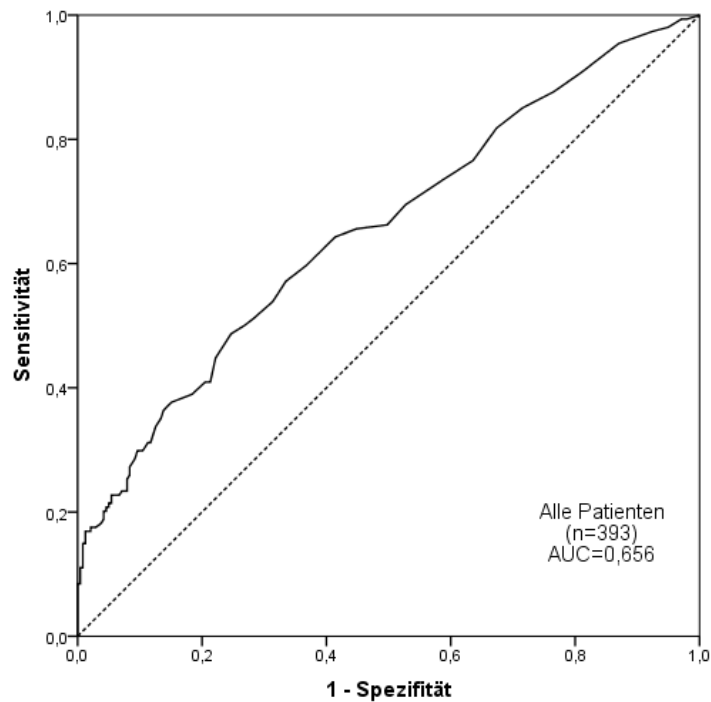


Abbildung 20: ROC-Analyse von FE_{NO} aller Patienten; eine Messung mit NIOX MINO®
Referenzstandard: leitliniengerechte Diagnose eines Pneumologen

Unter allen 393 Probanden betrug die Asthma-Prävalenz 39,2%. Daraus ließen sich die Sensitivität, Spezifität, sowie positiver und negativer prädiktiver Vorhersagewert (PPV/NPV) zu verschiedenen cut-off Werten berechnen (siehe Tabelle 16). Zur Identifikation des bestmöglichen cut-off Werts wurden zwei Verfahren herangezogen. Zum Einen wurde die größte Summe aus Sensitivität und Spezifität, zum Anderen wurden ein möglichst hohes PPV zum Einschluss der Diagnose („rule-in“) und ein möglichst hohes NPV zum Ausschluss der Diagnose („rule-out“) ermittelt.

Die größte Summe aus Sensitivität (49%) und Spezifität (75%) wurde bei einem cut-off Wert von 26 ppb erreicht. Ein möglichst hohes PPV wurde mit 80% ab einem cut-off Wert von 71 ppb erreicht. Ab diesem kritischen Punkt ließ sich demnach mit hoher Wahrscheinlichkeit die Diagnose Asthma stellen. Einen FE_{NO}-Wert jenseits dieses cut-off Werts hatten 34 (8,7%) Patienten. Ein möglichst hohes NPV und damit ein sicherer Ausschluss der Diagnose Asthma konnte mit 82% bei 9 ppb erreicht werden. Diesen Wert unterschritten 38 (9,7%) Patienten, sodass 321 (81,7%) mittlere FE_{NO}-Werte zwischen diesen kritischen Werten aufwiesen.

FENO (ppb)	Sensitivität in % (95%KI)	Spezifität in % (95%KI)	PPV in % (95% KI)	NPV in % (95%KI)	n
>9	0,96 (0,91-0,98)	0,13 (0,09-0,18)	0,41 (0,36-0,47)	0,82 (0,67-0,91)	355
>12	0,85 (0,79-0,90)	0,29 (0,23-0,35)	0,43 (0,38-0,49)	0,75 (0,65-0,83)	302
>16	0,70 (0,62-0,76)	0,47 (0,41-0,54)	0,46 (0,40-0,52)	0,71 (0,63-0,77)	233
>20	0,60 (0,52-0,67)	0,63 (0,57-0,69)	0,51 (0,44-0,58)	0,71 (0,64-0,77)	180
>25	0,49 (0,41-0,57)	0,75 (0,69-0,80)	0,56 (0,48-0,64)	0,69 (0,64-0,75)	134
>35	0,33 (0,26-0,40)	0,88 (0,83-0,91)	0,63 (0,52-0,73)	0,67 (0,62-0,72)	79
>41	0,27 (0,21-0,35)	0,92 (0,87-0,94)	0,68 (0,55-0,78)	0,66 (0,61-0,71)	62
>42	0,26 (0,20-0,33)	0,92 (0,87-0,94)	0,67 (0,54-0,77)	0,66 (0,61-0,71)	60
>43	0,26 (0,20-0,33)	0,92 (0,87-0,94)	0,67 (0,54-0,77)	0,66 (0,61-0,71)	60
>44	0,25 (0,19-0,33)	0,92 (0,88-0,95)	0,67 (0,55-0,78)	0,66 (0,60-0,71)	58
>45	0,25 (0,19-0,32)	0,92 (0,88-0,95)	0,67 (0,54-0,78)	0,65 (0,60-0,70)	57
>46	0,23 (0,17-0,31)	0,92 (0,88-0,95)	0,66 (0,52-0,77)	0,65 (0,60-0,70)	55
>71	0,18 (0,12-0,24)	0,97 (0,94-0,99)	0,80 (0,63-0,90)	0,65 (0,60-0,69)	34

Tabelle 16: Sensitivität, Spezifität, PPV, NPV von FE_{NO} bei verschiedenen cut-off Werten, alle Patienten (n=393)

Referenzstandard: leitliniengerichte Diagnose eines Pneumologen

3.3.6. Sensitivitätsanalyse der Diagnostik

Um die Qualität der pneumologischen Diagnostik zu objektivieren und einen möglichen Einfluss auf die diagnostische Genauigkeit der FE_{NO}-Messung zu untersuchen, wurde die diagnostische Aussagekraft der FE_{NO}-Messung mit einer Diagnose verglichen, die ausschließlich auf Lungenfunktionsparametern der Bodyplethysmographie basiert (AUC= 0,605; 95%KI 0,547-0,663; p< 0,001). Diese AUC ist niedriger als die AUC, die aus der pneumologischen Diagnostik unter Berücksichtigung von Anamnese und körperlicher Untersuchung ermittelt wurde (AUC=0,656 (95% KI 0,600-0,712; p < 0,001)). Somit wird deutlich, dass die diagnostische Genauigkeit des FE_{NO}-Werts besser mit der Diagnose eines Klinikers korreliert, der neben objektiven Parametern der Lungenfunktion auch Anamnese und Symptome der Patienten berücksichtigt. Zudem wurde eine ROC-Analyse unter Ausschluss von Patienten, die eine negative oder nur partielle Reversibilität in dem Bronchodilatationstest zeigten, durchgeführt. Dadurch sollten Patienten mit einem fixierten Asthma bronchiale oder einer COPD, zu deren genauer Unterscheidung eine Verlaufsbeobachtung nötig gewesen wäre, außen vor gelassen werden. Hier zeigte sich eine niedrigere diagnostische Aussagekraft als bei Betrachtung aller Patienten. Die AUC nach Ausschluss von Patienten mit unvollständiger Antwort im Bronchodilatationstest betrug lediglich 0,643 (95%KI 0,586-0,700; p< 0,001) gegenüber 0,656 (95% KI 0,600-0,712; p < 0,001) bei der Gesamtpopulation.

3.3.7. Diagnostischer Wert von FE_{NO} in Abhängigkeit von spontanem Sputum

Der diagnostische Wert der FE_{NO}-Messung sollte auch in Zusammenschau mit der Analyse einer spontanen Sputumprobe ermittelt werden, um die Abhängigkeit der diagnostischen Aussagekraft der FE_{NO}-Messung vom zugrundeliegenden Zellmuster abzuschätzen. Insgesamt gaben 128 Patienten eine Sputumprobe ab. Die Gruppe der Patienten ohne Sputumprobe wurde mit der Gruppe mit Sputumprobe auf mögliche Unterschiede hin verglichen. Im Bezug auf Symptome, die mit einem strukturierten Fragebogen erfasst wurden, ergaben sich in Chi-Quadrat-Tests nach Pearson keine signifikanten Unterschiede (siehe Tabelle 17). Auch bezüglich der

Lungenfunktionsparameter zeigten sich im Kruskal-Wallis-Test keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen (siehe Tabelle 18).

Symptome in den letzten 12 Monaten	Sputum n (%)	kein Sputum n (%)	p
pfeifendes Atemgeräusch	59 (46,1)	122 (46,0)	0,104
Atemnot bei stärkerer Anstrengung	72 (56,3)	123 (46,4)	0,082
Atemnot bei leichter Anstrengung	19 (14,9)	38 (14,3)	0,982
Atemnot in Ruhe oder ganz leichter Anstrengung	14 (10,9)	26 (9,8)	0,908
wegen Engegefühl im Brustbereich aufgewacht	35 (27,3)	79 (29,8)	0,857
wegen anfallsartiger Luftnot aufgewacht	19 (14,8)	45 (17,0)	0,807
wegen Hustenattacken aufgewacht	83 (64,8)	145 (54,7)	0,139
Asthmaanfall	6 (4,7)	11 (4,2)	0,966
gehäuft allergische Rhinitis	39 (30,5)	84 (31,7)	0,862
gehäuft Atemwegsinfekte	41 (32,0)	93 (35,1)	0,714
häufig Husten	64 (50,0)	116 (43,8)	0,457
häufig Auswurf	37 (28,9)	68 (25,7)	0,664

Tabelle 17: Symptome in den letzten 12 Monaten von Patienten mit (n=128) und ohne Sputumprobe (n=265)

Unterschiede zwischen Gruppen mittels Chi-Quadrat-Test nach Pearson

Lungenfunktion	Sputum (n=128)	kein Sputum (n=265)	p
FEV1 (MW in l [SD])	3,30 [0,89]	3,38 [0,98]	0,449
FVC (MW in l [SD])	3,97 [1,07]	3,99 [1,16]	0,980
FEV1/VC (MW in % [SD])	82,96 [8,24]	84,30 [8,13]	0,156

Tabelle 18: Parameter der Lungenfunktion von Patienten mit (n=128) und ohne Sputumprobe (n=265)

Unterschied der Mittelwerte mittels Kruskal-Wallis-Test

Die Prävalenz von Asthma unter Patienten mit Sputumprobe betrug 42,2% (ohne Sputumprobe 37,7%). Eine ROC-Analyse ergab eine AUC von 0,724 (95%KI 0,635-0,813; $p < 0,001$) (siehe Abbildung 21).

Für die größte Summe aus Sensitivität (61% beziehungsweise 56%) und Spezifität (76% beziehungsweise 81%) der FE_{NO} -Messung ergaben sich zwei cut-off Werte bei 23 ppb und 25 ppb (siehe Tabelle 19). Das größtmögliche PPV zum Einschluss der Diagnose Asthma wurde mit 80% ab einem kritischen FE_{NO} -Wert von 41 ppb erreicht. Über diesem cut-off Wert lagen 20 (15,6%) Patienten. Ein möglichst hohes NPV zum Ausschluss eines Asthma bronchiale lag mit 83% ab einem Wert von 12 ppb vor. Diesen cut-off Wert unterschritten 29 (22,7%) Patienten. In dieser Gruppe hatten 79 (61,7%) mittlere FE_{NO} -Werte zwischen den beiden kritischen Punkten.

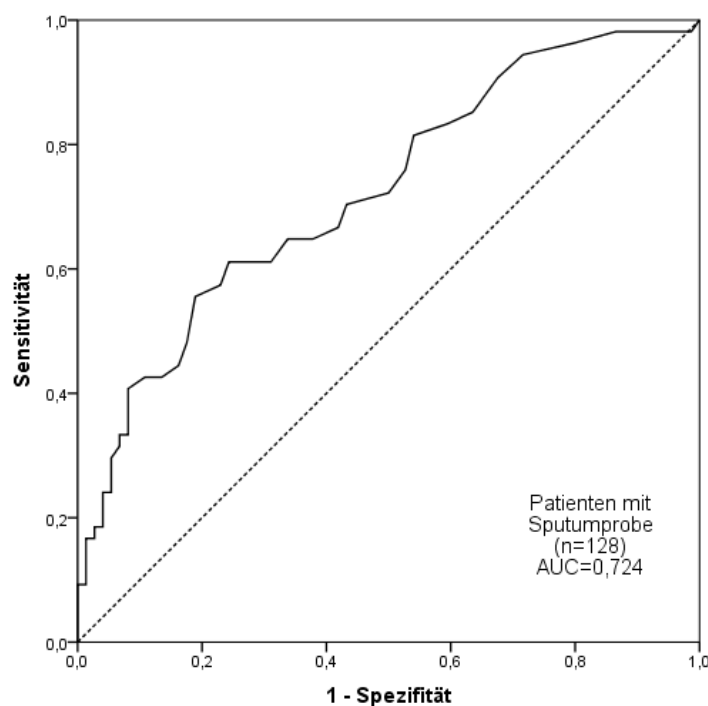


Abbildung 21: ROC-Analyse von FE_{NO} bei Patienten mit Sputumprobe; eine Messung mit NIOX MINO®

Referenzstandard: leitliniengerechte Diagnose eines Pneumologen

FENO (ppb)	Sensitivität in % (95%KI)	Spezifität in % (95%KI)	PPV in % (95% KI)	NPV in % (95%KI)	n
>9	0,98 (0,90-1,00)	0,14 (0,07-0,23)	0,45 (0,37-0,54)	0,91 (0,62-0,98)	117
>12	0,91 (0,80-0,96)	0,32 (0,23-0,44)	0,49 (0,40-0,59)	0,83 (0,65-0,92)	99
>16	0,76 (0,63-0,85)	0,47 (0,36-0,59)	0,51 (0,40-0,62)	0,73 (0,59-0,83)	80
>20	0,65 (0,51-0,76)	0,62 (0,51-0,72)	0,56 (0,43-0,67)	0,71 (0,59-0,80)	63
>23	0,61 (0,48-0,73)	0,76 (0,65-0,84)	0,65 (0,51-0,76)	0,73 (0,62-0,81)	51
>25	0,56 (0,42-0,68)	0,81 (0,71-0,88)	0,68 (0,53-0,80)	0,71 (0,61-0,80)	44
>35	0,35 (0,24-0,49)	0,92 (0,83-0,96)	0,76 (0,57-0,89)	0,66 (0,56-0,74)	25
>41	0,30 (0,19-0,43)	0,95 (0,87-0,98)	0,80 (0,58-0,92)	0,65 (0,55-0,73)	20
>44	0,26 (0,16-0,39)	0,95 (0,87-0,98)	0,78 (0,55-0,91)	0,64 (0,54-0,72)	18
>47	0,24 (0,15-0,37)	0,95 (0,87-0,98)	0,77 (0,53-0,90)	0,63 (0,54-0,71)	17
>50	0,24 (0,15-0,37)	0,96 (0,89-0,99)	0,81 (0,57-0,93)	0,63 (0,54-0,72)	16

Tabelle 19: Sensitivität, Spezifität, PPV, NPV von FE_{NO} bei verschiedenen cut-off Werten, Patienten mit Sputumprobe (n=128)

Referenzstandard: leitliniengerechte Diagnose eines Pneumologen

3.3.8. Diagnostischer Wert von FE_{NO} und Sputum unter Ausschluss von Neutrophilie

Asthmatiker mit neutrophilen Granulozyten in ihrem Sputum wiesen deutlich niedrigere FE_{NO}-Werte als diejenigen mit anderen Zellmustern auf. Aus diesem Grund wurde eine weitere Überprüfung der diagnostischen Genauigkeit von FE_{NO} in Kombination mit Sputum zur Erkennung von Asthma bronchiale durchgeführt, bei der 19 Probanden mit neutrophilem Entzündungsmuster ausgeschlossen wurden. Es verblieben daraufhin 109 von ursprünglich 128 Patienten mit einer Sputumprobe. Die Prävalenz von Asthma in dieser Gruppe betrug 45,0%. Die AUC der ROC-Analyse erreichte einen Wert von 0,745 (95%KI 0,651-0,838; p < 0,001) (siehe Abbildung 22).

Die größte Summe aus Sensitivität (67%) und Spezifität (77%) zur bestmöglichen Vorhersage der Diagnose Asthma bronchiale war bei einem FE_{NO} von 23 ppb gegeben (siehe Tabelle 20). Das größtmögliche PPV zum Einschluss der Diagnose lag mit 82% ab einem cut-off Wert von 31 ppb vor. 27 (24,8%) Patienten lagen über diesem Wert. Ein möglichst hohes NPV wurde mit 81% ab einem FE_{NO} -Wert von 12 ppb erreicht. Diesen Wert unterschritten 26 (23,9%) Patienten. Insgesamt bedeutet dies, dass unter 12 ppb ein Asthma relativ sicher ausgeschlossen und über 31 ppb relativ sicher eingeschlossen werden kann. In dieser Gruppe hatten 56 (51,4%) Patienten mittlere FE_{NO} -Werte zwischen den beiden kritischen Punkten.

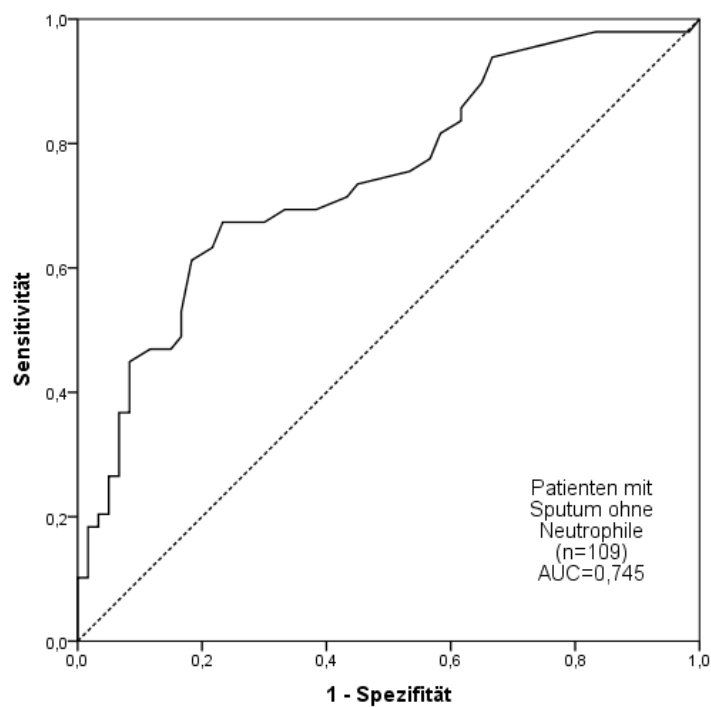


Abbildung 22: ROC-Analyse von FE_{NO} bei Patienten mit Sputumprobe, ohne Neutrophile
Referenzstandard: leitliniengerechte Diagnose eines Pneumologen

FENO (ppb)	Sensitivität in % (95%KI)	Spezifität in % (95%KI)	PPV in % (95% KI)	NPV in % (95%KI)	n
>9	0,98 (0,89-1,00)	0,17 (0,09-0,28)	0,49 (0,39-0,59)	0,91 (0,62-0,98)	98
>12	0,90 (0,78-0,96)	0,35 (0,24-0,48)	0,53 (0,42-0,63)	0,81 (0,62-0,91)	83
>16	0,78 (0,64-0,87)	0,43 (0,32-0,56)	0,53 (0,41-0,64)	0,70 (0,54-0,83)	72
>20	0,69 (0,55-0,80)	0,62 (0,49-0,73)	0,60 (0,47-0,71)	0,71 (0,58-0,82)	57
>23	0,67 (0,53-0,79)	0,77 (0,65-0,86)	0,70 (0,56-0,81)	0,74 (0,62-0,83)	47
>31	0,45 (0,32-0,59)	0,92 (0,82-0,96)	0,82 (0,63-0,92)	0,67 (0,56-0,76)	27
>33	0,43 (0,30-0,57)	0,92 (0,82-0,96)	0,81 (0,62-0,92)	0,66 (0,56-0,76)	26
>34	0,41 (0,28-0,55)	0,92 (0,82-0,96)	0,80 (0,61-0,91)	0,65 (0,55-0,75)	25
>35	0,39 (0,26-0,53)	0,92 (0,82-0,96)	0,79 (0,60-0,91)	0,65 (0,54-0,74)	24
>36	0,37 (0,25-0,51)	0,92 (0,82-0,96)	0,78 (0,58-0,90)	0,64 (0,53-0,73)	23
>38	0,37 (0,25-0,51)	0,93 (0,84-0,97)	0,82 (0,61-0,93)	0,64 (0,54-0,74)	22
>40	0,35 (0,23-0,49)	0,93 (0,84-0,97)	0,81 (0,60-0,92)	0,64 (0,53-0,73)	21

Tabelle 20: Sensitivität, Spezifität, PPV, NPV von FE_{NO} bei verschiedenen cut-off Werten, Patienten mit Sputumprobe, ohne Neutrophile (n=109)

Referenzstandard: leitliniengerechte Diagnose eines Pneumologen

3.3.9. Diagnostischer Wert von FE_{NO} zur Erkennung von eosinophilem Asthma bronchiale

Asthmatiker mit Eosinophilie in der Sputumprobe wiesen mit Abstand die höchsten FE_{NO}-Werte auf. Es sollte daher in einem letzten Schritt untersucht werden, wie gut die FE_{NO}-Messung ein eosinophiles Asthma vorhersagen kann. Bei 26 Patienten unter 128 Patienten mit Sputumprobe wurde ein eosinophiles Asthma festgestellt. Daraus ergab sich eine Prävalenz für eosinophiles Asthma von 25,5%. Eine ROC-Analyse ergab eine AUC von 0,793 (95%KI 0,697-0,889; p <0,001) (siehe Abbildung 23). Die höchste Summe aus Sensitivität (73%) und Spezifität (76%) lag bei einem cut-off Wert von 25

ppb vor (siehe Tabelle 21). Das größtmögliche PPV zum Einschluss eines eosinophilen Asthma bronchiale war mit 70% über einem FE_{NO} -Wert von 77 ppb zu erkennen. Über diesem Wert lagen 10 (7,8%) Probanden. Das größtmögliche NPV lag mit 100% ab einem Wert von 9 ppb vor. Unter diesem cut-off Wert fanden sich 11 (8,6%) Personen. Daraus ergab sich eine Zahl von 107 (83,6%) Probanden, die FE_{NO} -Werte zwischen diesen beiden cut-off Werten hatten.

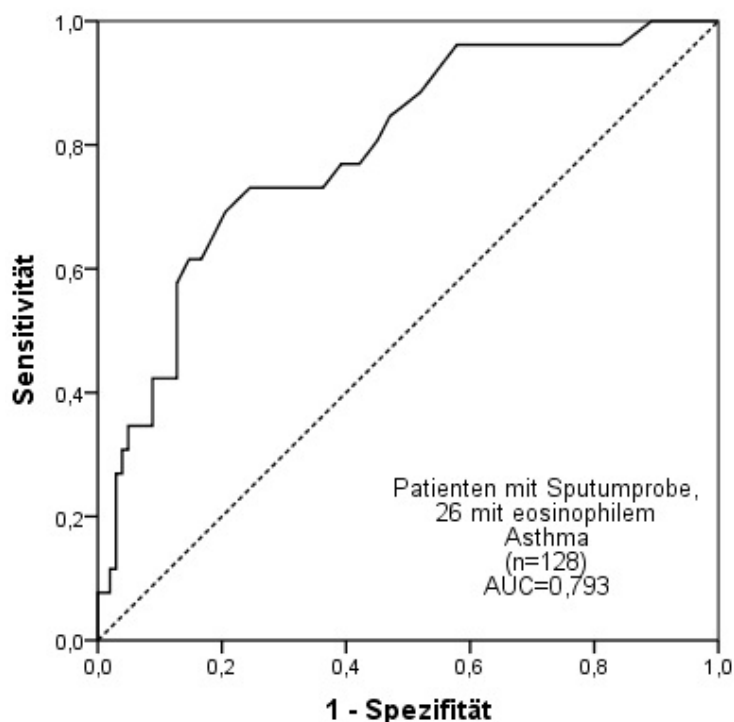


Abbildung 23: ROC-Analyse für eosinophiles Asthma bei Patienten mit Sputumprobe
Referenzstandard: leitliniengerechte Diagnose eines Pneumologen

FENO (ppb)	Sensitivität in % (95%KI)	Spezifität in % (95%KI)	PPV in % (95% KI)	NPV in % (95%KI)	n
>9	1,00 (0,87-1,00)	0,11 (0,06-0,18)	0,22 (0,16-0,31)	1,00 (0,74-1,00)	117
>12	0,96 (0,81-0,99)	0,28 (0,20-0,37)	0,25 (0,18-0,35)	0,97 (0,83-0,99)	99
>16	0,92 (0,76-0,98)	0,45 (0,36-0,55)	0,30 (0,21-0,41)	0,96 (0,86-0,99)	80
>18	0,85 (0,66-0,94)	0,53 (0,43-0,62)	0,31 (0,22-0,43)	0,93 (0,84-0,97)	70
>20	0,77 (0,58-0,89)	0,58 (0,48-0,67)	0,32 (0,22-0,44)	0,91 (0,81-0,96)	63
>25	0,73 (0,54-0,86)	0,76 (0,66-0,83)	0,43 (0,30-0,58)	0,92 (0,84-0,96)	44
>26	0,69 (0,50-0,83)	0,79 (0,71-0,86)	0,46 (0,32-0,61)	0,91 (0,83-0,95)	39
>30	0,62 (0,42-0,78)	0,85 (0,77-0,91)	0,52 (0,35-0,68)	0,90 (0,82-0,94)	31
>35	0,46 (0,29-0,65)	0,87 (0,79-0,92)	0,48 (0,30-0,67)	0,86 (0,78-0,92)	25
>40	0,42 (0,26-0,61)	0,89 (0,82-0,94)	0,50 (0,31-0,69)	0,86 (0,78-0,91)	22
>43	0,35 (0,19-0,54)	0,91 (0,84-0,91)	0,50 (0,29-0,71)	0,85 (0,77-0,90)	18
>47	0,35 (0,19-0,54)	0,92 (0,85-0,96)	0,53 (0,31-0,74)	0,85 (0,77-0,90)	17
>53	0,35 (0,19-0,54)	0,95 (0,89-0,98)	0,64 (0,39-0,84)	0,85 (0,77-0,90)	14
>71	0,27 (0,14-0,46)	0,96 (0,90-0,98)	0,64 (0,35-0,85)	0,84 (0,76-0,89)	11
>77	0,27 (0,14-0,46)	0,97 (0,92-0,99)	0,70 (0,40-0,89)	0,84 (0,76-0,89)	10

Tabelle 21: Sensitivität, Spezifität, PPV, NPV von FE_{NO} bei verschiedenen cut-off Werten, Patienten mit eosinophilem Asthma bei abgegebener Sputumprobe (n=128)

Referenzstandard: leitliniengerechte Diagnose eines Pneumologen

3.3.10. Number needed to diagnose

Mit der Number needed to diagnose soll ausgedrückt werden, bei wie vielen Patienten eine FE_{NO}-Messung durchgeführt werden muss, um eine Bronchoprovokation einsparen zu können. Man vergleicht dafür diejenigen Patienten, die unter dem cut-off Wert zum Ausschluss oder über dem cut-off Wert zum Einschluss eines Asthma bronchiale liegen,

die also sicher mit dem FE_{NO}-Gerät diagnostiziert werden können, mit denen, die Werte im Bereich dazwischen aufweisen. Betrachtete man alle 393 Patienten, so lagen 38 (9,7%) Patienten unter dem kritischen Wert von ≤ 9 ppb (NPV $\geq 82\%$) und 34 (8,7%) Patienten über dem cut-off Wert von 71 ppb (PPV $\geq 80\%$). 321 (81,7%) hatten somit Werte zwischen den sicheren diagnostischen Bereichen und würden demnach zur Bestätigung der Diagnose eine Bronchoprovokation benötigen. Da knapp 20% der Patienten in dem sicheren Bereich lagen, müssten also bei fünf Patienten FE_{NO}-Messungen durchgeführt werden, um eine Bronchoprovokation einzusparen.

In der Gruppe der Probanden mit abgegebener Sputumprobe lagen 29 (22,7%) Patienten unter dem cut-off Wert von ≤ 12 ppb (NPV $\geq 83\%$) und 20 (15,6%) über dem kritischen Wert von 41 ppb (PPV $\geq 80\%$). Es hatten 79 (61,7%) Probanden mittlere FE_{NO}-Werte. Drei Patienten müssten demnach eine FE_{NO}-Messung erhalten, um eine Bronchoprovokation einzusparen. Nach Ausschluss von Patienten ohne Neutrophile in ihrem Sputum hatten 26 (23,9%) FE_{NO}-Werte ≤ 12 ppb (NPV $\geq 81\%$) und 27 (24,8%) Werte über 31 ppb (PPV $\geq 82\%$). 56 (51,4%) Patienten lagen mit ihren Werten dazwischen. In dieser Gruppe müssten zwei Patienten mit dem FE_{NO}-Gerät gemessen werden, um eine Bronchoprovokation einzusparen. Zur Erkennung eines eosinophilen Asthma bronchiale wurden 128 Probanden mit einer abgegebenen Sputumprobe betrachtet. 10 (7,8%) hatten FE_{NO}-Werte über 77 ppb (PPV $\geq 70\%$) und 11 (8,6%) unter 9 ppb (NPV =100%). 107 (83,6%) hatten FE_{NO}-Werte zwischen diesen cut-off Werten. Damit liegt die number needed to diagnose für eosinophiles Asthma bei fünf Personen.

4. Diskussion

Die Untersuchungen zur Übereinstimmung der beiden FE_{NO}-Messgeräte - dem tragbaren, kostengünstigeren NIOX MINO[®] und dem stationären NIOX[®] Flex - konnten zeigen, dass zwischen beiden Geräten eine gute Übereinstimmung für den klinischen Gebrauch besteht. Zudem liefert das handliche NIOX MINO[®] verlässliche, wiederholbare Messwerte. Es kann somit mit einer einzelnen Messung in der Praxisroutine eingesetzt werden.

Die alleinige Diagnostik eines Asthma bronchiale mittels FE_{NO}-Messung ergab einen oberen cut-off Wert bei einem FE_{NO}-Wert von 71 ppb zum Einschluss der Diagnose Asthma bronchiale und einen unteren cut-off Wert bei 9 ppb zu deren Ausschluss. Bei Probanden, die eine Sputumprobe abgegeben hatten, war ab 41 ppb die Diagnose zu stellen und unter 12 ppb auszuschließen. Nach Ausschluss von Neutrophilie im Sputum konnte bereits ab 31 ppb relativ sicher ein Asthma diagnostiziert und unter 12 ppb ausgeschlossen werden. Für die Erkennung von eosinophilem Asthma lagen auf Grund der niedrigen Vortestwahrscheinlichkeit zwar die cut-off Werte bei 77 beziehungsweise 9 ppb. Jedoch zeigte die ROC-Analyse mit einer AUC von 0,793 das große diagnostische Potenzial. Die FE_{NO}-Messung ist somit gut geeignet zur Erkennung beziehungsweise zum Ausschluss von eosinophilem Asthma bronchiale, bei Neutrophilie führt sie jedoch häufig zu irreführenden beziehungsweise falschen Ergebnissen. Diese Aspekte werden im Folgenden detailliert diskutiert, zuvor sollen jedoch die Limitationen der Studie dargestellt werden.

4.1. Material und Methoden

4.1.1. Patientenauswahl

Auf Basis eines früher durchgeführten Pilotprojekts wurde die Prävalenz von Asthma bronchiale in einer Lungenarztpraxis auf 34,5% geschätzt (Schneider et al., 2012). Damit ergab sich in der Berechnung nach Simel et al. eine notwendige Probandenzahl von mindestens 302 Patienten (Simel et al., 1991). Um Verluste bei einer anschließenden follow-up Erhebung aufzufangen, wurde eine Patientenzahl von 400 festgesetzt. Diese Fallzahl ist, verglichen mit den bisherigen Studien zur diagnostischen

Genauigkeit von FE_{NO}, sehr groß, sodass man eine gute klinische Aussagekraft der Untersuchung erwarten durfte (Berkman et al., 2005; Bernstein et al., 2009; Dupont et al., 2003; Fortuna et al., 2007; Smith et al., 2004; Schneider et al., 2009).

Die Ein- und Ausschlusskriterien der Probanden sollten die klinische Versorgungsrealität möglichst gut abbilden, indem wenige Parameter zu einem Ausschluss führen und gleichzeitig ohne vorherige Selektion alle in Frage kommenden Patienten eingeschlossen werden sollten. So wurden alle Patienten eingeschlossen, die ohne vorherige Diagnose zum ersten Mal mit einem Verdacht auf Asthma bronchiale die Lungenarztpraxis aufsuchten. Vorherige Studien zur diagnostischen Genauigkeit von FE_{NO} hatten erheblich vorselektionierte Probanden im Sinne diagnostischer Phase-II-Studien, bei denen vorher bereits die Diagnose und bei Zietkowski et al. zusätzlich der Allergiestatus feststanden (Bernstein et al., 2009; Menzies et al., 2007; Zietkowski et al., 2006). Ausgeschlossen wurden lediglich Raucher, wenn sie in den vorangegangenen 24 Stunden geraucht hatten. Kaffeekonsum, die letzte Mahlzeit und eine Anstrengung vor der Untersuchung wurden dokumentiert, führten jedoch nicht zum Ausschluss. Auch Patienten mit allergischer Rhinitis wurden eingeschlossen, um eine möglichst praxisnahe Stichprobe zu erhalten. Dadurch entstand eine repräsentative Stichprobe im Sinne einer diagnostischen Phase-III-Studie (Sackett and Haynes, 2002), die möglichen störenden Einflussfaktoren der FE_{NO}-Messung unterliegen konnte und die potentiell alle schwer abgrenzbaren Fälle wie zum Beispiel Patienten mit COPD, BHR und allergischer Diathese einbezog.

Auf Grund der wenigen Ausschlusskriterien und weil die Teilnahme keinen zusätzlichen Aufwand für die Probanden bedeutete, mussten nur sehr wenige Teilnehmer ausgeschlossen werden beziehungsweise lehnten die Teilnahme ab. Die Rate der Nonresponder wurde zwar nicht dokumentiert, die Zahl war jedoch aus den beschriebenen Gründen vernachlässigbar klein.

4.1.2. Referenzstandard

Als einheitlicher Referenzstandard wurde die Bodyplethysmographie einschließlich – falls notwendig - Bronchoprovokation mit Methacholin oder Bronchodilatationstest gewählt. Nach wie vor gilt die Bronchoprovokation bei unklarem Befund einer Spirometrie als Goldstandard in der Diagnostik eines Asthma bronchiale (Hunter et al., 2002). Die ATS hat jedoch in ihrem Expert Panel Report von 2007 darauf hingewiesen,

dass man bei der Beurteilung aufmerksam sein müsse, da zwar eine positive Bronchoprovokation das Vorliegen einer bronchialen Hyperreagibilität nachweise, diese jedoch nicht spezifisch für ein Asthma bronchiale sei (National Asthma Education and Prevention Program., 2007). Auch allergische Rhinitis, zystische Fibrose, COPD und andere Erkrankungen könnten eine positive Bronchoprovokation ergeben. Sicherer sei die Bronchoprovokation mit hoher Sensitivität zum Ausschluss eines Asthma bronchiale (National Asthma Education and Prevention Program., 2007). Bei der Beurteilung der diagnostischen Genauigkeit der Methacholin-Provokation stellt sich jedoch das Problem, hierfür wiederum eine objektive Bestätigung der Diagnose Asthma zu finden. Die zumeist aus klinischen Parametern und objektiven Lungenfunktionsparametern zusammengesetzte Diagnose macht die Berechnung von Sensitivität und Spezifität schwierig (Cockcroft, 2010). Möglicherweise resultieren aus dieser Problematik, unterschiedlichen Schweregraden der Erkrankung und aus der Auswahl der Studienteilnehmer verschiedene cut-off Werte für die richtige Methacholin-Konzentration. Perpina et al. ermittelten in ihren Untersuchungen einen PC₂₀-cut-off-Wert von 15 mg/ml, der durch einen Abfall der FEV₁ um mindestens 20% am besten zwischen Asthmatikern und gesunden Probanden trennte. An diesem Punkt war die Summe aus Sensitivität (84%) und Spezifität (86%) am höchsten. Sie konnten zeigen, dass mit sinkendem cut-off Wert, also einem Ansprechen bereits auf geringere Konzentrationen, das „rule-in“ der Diagnose Asthma bronchiale bei steigender Spezifität verbessert wurde. Bei Erhöhung des cut-off Werts war die Methacholin-Provokation besser zum „rule-out“ bei hoher Sensitivität geeignet (Perpina et al., 1993). Hunter et al. schlugen einen cut-off Wert von 8mg/ml Methacholin vor. Bei ihnen lieferte dieser Wert eine gleichermaßen hohe Spezifität (90%) wie Sensitivität (91%), was aber wohl an der schwereren Symptomatik der Probanden lag (Hunter et al., 2002). Berkman et al. rieten gar zu einem cut-off Wert für Methacholin von 3 mg/ml mit gleichermaßen hohen Werten für Sensitivität (87,5%) und Spezifität (86,7%), allerdings in einer Population mit einer hohen Prävalenz von Asthma bronchiale (47%) (Berkman et al., 2005).

Gerade die Prävalenz spielt eine wichtige Rolle bei der Beurteilung der diagnostischen Sicherheit der Methacholin-Provokation. Perpina et al. konnten in einer Bayes'schen Analyse zeigen, dass die diagnostische Genauigkeit mit zunehmender Prävalenz ansteigt, wobei das beste Verhältnis aus PPV (86%) und NPV (84%) bei einer Prävalenz von 50% erreicht wurde (Perpina et al., 1993). Unter Berücksichtigung des Bayes'schen Theorems haben Crapo et al. schließlich in den Leitlinien von 1999 ein Stufenschema für den Grad der bronchialen Hyperreagibilität vorgeschlagen, das die

Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen von Asthma bronchiale abbildet, statt einen festen cut-off Wert für die Diagnose Asthma bronchiale zu verwenden (Crapo et al., 2000). Demnach wurde bei einem PC₂₀ von 1mg/ml eine schwere bronchiale Hyperreagibilität und bei einem PC₂₀ von mehr als 16 mg/ml eine normale bronchiale Antwort konstatiert. Die Pneumologen trugen dieser Unschärfe Rechnung, indem sie sich bei ihrer Diagnose in Grenzfällen nicht streng an einem cut-off Wert orientierten, sondern gleichermaßen Anamnese und Symptome und damit ihre klinische Erfahrung einbezogen. Um die Validität der Diagnosen zu bestätigen, wurden diese zusätzlich von einem Expertenteam kontrolliert.

In der vorliegenden Studie wurde ein neues Dosimeter-Protokoll eingesetzt, das von den Leitlinien der ATS für die Methacholin-Provokation von 1999 abwich. Die ATS sah für klinische Zwecke eine fünf-stufige Erhöhung der Dosis mit jeweils anschließender gleich langer Inspiration von der funktionellen Residualkapazität bis fast zur totalen Lungenkapazität vor (Crapo et al., 2000). In dem neuen Schema wurde in vier Stufen bei gleichbleibender Methacholin-Konzentration von 16 mg/ml die Dauer der Inspiration verlängert, sodass effektiv jeweils eine vergleichbare Methacholin-Menge wie bei der fünf-stufigen Methode eingeatmet wird. Dieses Protokoll bietet grundsätzlich den Vorteil, dass die Herstellung nur einer Methacholin-Lösung mit fester Konzentration im Gegensatz zu verschiedenen Lösungen mit steigender Konzentration weniger Materialaufwand bedeutet und weniger fehleranfällig ist. Damit sollte eine möglichst einfache Methode, die in hohem Maße reproduzierbar ist, für den Routineeinsatz in der Praxis etabliert werden. Die Übereinstimmung mit dem von der ATS vorgeschlagenen Protokoll konnte von Merget et al. belegt werden (Merget et al., 2009). Schulze et al. wiesen in einem ähnlichen Ansatz mit einer festen Methacholin-Konzentration von 16 mg/ml, aber fünf Inhalationsstufen, im direkten Vergleich mit der Standard-Methode der ATS-Leitlinien eine ebenso gute klinische Übereinstimmung nach (Schulze et al., 2009). Als problematisch stellte sich der diagnostische Umgang mit den 17 Patienten heraus, die einem Bronchodilatationstest unterzogen wurden. Es wurde teilweise die Diagnose Asthma gestellt, obwohl die objektiven Kriterien des Tests nicht ganz erfüllt waren. Zwei Patienten wurden als Asthmatiker klassifiziert, obwohl sie die geforderten Normwerte nicht erreichten, fünf, obwohl sie eine negative Antwort zeigten. Letztere litten wohl unter einem fixierten Asthma bronchiale. Die Diagnose Asthma wurde in diesen Fällen auf Grund des klinischen Bildes gestellt. Um die Trennschärfe zwischen Asthma und fixierter Obstruktion im Sinne einer COPD in solchen Fällen zu erhöhen, hätte man eine erneute Evaluierung nach einer Behandlung mit Steroiden anstreben können, was

allerdings in dem gewählten Studiendesign nicht möglich war. Trotz der möglichen Unschärfe zeigte sich in einer Sensitivitätsanalyse unter Ausschluss dieser Fälle keine Beeinträchtigung der diagnostischen Aussagekraft. Laut Brand et al. und Quadrelli et al. sei es ohnehin je nach Population schwierig, allgemein gültige cut-off Werte für positive oder negative Ergebnisse im Bronchodilatationstest festzulegen (Brand et al., 1992; Quadrelli et al., 1999). Hardin et al. bekräftigten in einer Studie die Schwierigkeit der Abgrenzung (Hardin et al., 2011). Patienten mit alleiniger COPD und solche mit COPD bei früherer Diagnose eines Asthma bronchiale zeigten dort keinen Unterschied in der Reversibilität nach Bronchodilatation.

Letztlich gelten nach wie vor abhängig von der initialen Spirometrie ein Bronchodilatationstest oder eine Bronchoprovokation mit Methacholin als Referenzstandard bei der Asthma-Diagnostik. Jedoch sollten für eine valide Diagnose nicht ausschließlich auf cut-off Werte geachtet, sondern klinische Parameter mit einbezogen werden.

4.1.3. Überprüfung der Referenzdiagnostik

Dieser Forderung wurden die Pneumologen bei ihrer Routinediagnostik in der niedergelassenen Praxis in vollem Umfang gerecht. Ihre Diagnostik fußte auf einer Zusammenschau aus leitliniengerechten, objektiven Untersuchungen, aber auch der Einbeziehung der Symptome, der Anamnese und der klinischen Erfahrung jedes einzelnen Arztes. Aus zwei Gründen wurden dennoch die Diagnosen durch ein externes Expertengremium nochmals überprüft, um eine wissenschaftlich fundierte Diagnostik für die vorliegende Studie sicherzustellen:

Erstens, um mögliche Abweichungen der diagnostischen Prozesse unter den einzelnen Ärzten auszugleichen. Da die Experten sich nur an den objektiven Befunden orientieren konnten - der Lungenfunktion, dem standardisierten Fragebogen und dem Auskultationsbefund - konnte unabhängig vom Gesamteindruck des Patienten, der durchaus durch den subjektiven Leidensdruck geprägt sein kann, die Diagnose unabhängig von der Arzt-Patienten-Interaktion evaluiert werden.

Zweitens ist in Grenzfällen eine endgültige Diagnosestellung bei der ersten Arztkonsultation oftmals schwierig. In diesen Fällen müsste man idealerweise durch einen Therapieversuch über etwa zwei Wochen versuchen, eine sichere Abgrenzung zu erreichen. Diese Möglichkeit bestand jedoch aufgrund des Studiendesigns nicht,

weshalb die erneute Begutachtung durch ein externes Expertengremium als sinnvolle Möglichkeit erschien, gemeinsam eine klinisch, aber auch wissenschaftlich fundierte Diagnose festzulegen. In den meisten Fällen stimmten die Experten vollends mit der Entscheidung der Pneumologen überein. In 32 (8,1%) Fällen wurde in Rücksprache mit dem den ursprünglichen Befund erstellenden Pneumologen die Diagnose korrigiert.

4.1.4. FE_{NO}-Messung

Die FE_{NO}-Messung erlebte in den 90er Jahren einen regelrechten Aufschwung, nachdem erhöhte Werte bei Asthmatikern nachgewiesen werden konnten. Heute wird die Stickoxid-Messung teilweise zum Therapiemanagement, zur Vorbeugung von Exazerbationen, als auch zur Diagnostik von Asthma eingesetzt. Bislang konnte allerdings bei den meisten Fragestellungen kein zweifelsfreier Nutzen der FE_{NO}-Messung belegt werden. Eine große Studie von Szeffler et al. mit 546 Jugendlichen und jungen Erwachsenen mit Asthma bronchiale sah keinen Vorteil für die FE_{NO}-Messung hinsichtlich der Asthma-Kontrolle, darüber hinaus waren sogar die nötigen Dosen an inhalativen Kortikoiden mit FE_{NO}-basiertem Management höher als mit leitliniengerechter Betreuung. Petsky et al. bestätigten in einem systematischen Review mit neun Studien, in dem auch die Erhebung von Szeffler et al. enthalten war, dass sich die Menge an inhalativen Kortikoiden nicht durch ein FE_{NO}-basiertes Management senken lasse (Petsky et al., 2012). Auch eine randomisierte, kontrollierte Studie von Calhoun et al. erkannte keinen Vorteil der FE_{NO}-Messung gegenüber symptom-oder untersuchungsbasierter Erhebungen bei der Anpassung der inhalativen Kortikoidtherapie (Calhoun et al., 2012). Unbestritten ist lediglich der Nutzen bei der Vorhersage des Ansprechens auf Corticosteroide (Cowan et al., 2010; Smith et al., 2005). Im Bezug auf den diagnostischen Nutzen der Stickoxid-Messung gibt es bislang keinen eindeutigen Konsens. Zwar bescheinigten ihr viele Autoren eine gute diagnostische Aussagekraft (Deykin et al., 2002; Dupont et al., 2003; Smith et al., 2004). Berkman et al. stellten sie gar auf eine Stufe mit der Bronchoprovokation (Berkman et al., 2005), jedoch wichen die gefundenen cut-off Werte und die dazugehörigen Werte für Sensitivität, Spezifität, PPV und NPV zum Teil stark voneinander ab. Grundsätzlich wird man bei der Interpretation von FE_{NO}-Werten mit zwei Problemen konfrontiert:

Erstens bereitete bislang der Versuch, allgemeingültige Norm- oder Referenzwerte für die FE_{NO}-Messung zu etablieren, große Schwierigkeiten. Praktisch alle Studien, die sich diesem Problem gewidmet haben, führten unterschiedliche Einflussfaktoren auf den FE_{NO}-Wert an. In der vorliegenden Studie konnten wir das Geschlecht der Probanden und den Allergie-Status als mögliche Störfaktoren ausmachen.

Männer hatten unabhängig von der Körpergröße höhere FE_{NO}-Werte als Frauen, was am ehesten an der kleineren Lungenoberfläche und dem kleineren Durchmesser der weiblichen konduktiven Atemwege liegen dürfte (Brooks et al., 1988). Einige Autoren konnten ebenso einen Einfluss des Geschlechts beobachten. Olivieri et al. untersuchten dazu 240 gesunde Erwachsene (Olivieri et al., 2006). Travers et al. beobachteten einen Einfluss des Geschlechts an einer Kohorte von 2319 Personen aus der Bevölkerung (Travers et al., 2007). Auch Taylor et al. fanden einen solchen Effekt unabhängig von anderen Faktoren wie der Größe (Taylor et al., 2007). Eine große Studie von Olin et al. unter 2200 Probanden aus der allgemeinen Bevölkerung konnte jedoch keinen derartigen Einfluss ausmachen. Sie führten den Effekt auf den Einfluss der Größe zurück (Olin et al., 2006). Auch bei Kovesi et al. wurde bei gesunden Kindern zwischen neun und 12 Jahren unter anderem lediglich ein Einfluss der Größe, nicht jedoch des Geschlechts an sich gefunden (Kovesi et al., 2008). Es lässt sich demnach nicht eindeutig festlegen, ob das Geschlecht unabhängig von der Körpergröße und damit der Lungenoberfläche einen Einfluss auf die FE_{NO}-Werte ausüben könnte.

Bezüglich des Einflusses von Allergie- beziehungsweise Atopiestatus war es vor allem die Art der Erfassung dieses Parameters, die zu mangelnder Übereinstimmung führte. Viele Autoren sahen einen Einfluss von Allergien beziehungsweise Atopie auf FE_{NO}-Werte. Olin et al. erfassten den Atopie-Status anhand von IgE-Werten im Blut und fanden einen Zusammenhang mit dem Stickoxid (Olin et al., 2006). Travers et al. stützten sich auf einen Prick-Test. Auch sie beobachteten einen derartigen Zusammenhang (Travers et al., 2007). Da in verschiedenen Studien zahlreiche diagnostische Instrumente zum Einsatz kamen und auch wegen der Menge an verschiedenen Ausprägungen und Schweregraden von Allergien war dieser Faktor jedoch schwierig zu quantifizieren. Zudem wurde in der vorliegenden Studie lediglich anhand eines Fragebogens ermittelt, ob überhaupt eine Neigung zu allergischer Rhinitis bestehe. Diese Methode scheint zu ungenau, um den Parameter „Allergie“ auf die Frage nach einem vorhandenen Einfluss hin zu prüfen. Neben den in der vorliegenden Studie entdeckten Einflussfaktoren wurden von anderen Autoren vor allem Alter, Größe, Gewicht, Rauchen und Atemwegsinfekte als Einfluss- oder Störfaktoren ermittelt. Es

wurden daraufhin zahlreiche Versuche unternommen, Referenzwerte zur Standardisierung der FE_{NO}-Messung abzuleiten (Dressel et al., 2008; Karrasch et al., 2011; Olin et al., 2007; Olivieri et al., 2006). Auf Grund der beschriebenen Abweichungen bezüglich gefundener Faktoren und unterschiedlicher Studiendesigns sollte man jedoch im klinischen Umfeld auf die Anwendung von Referenzwerten verzichten und besser praxisrelevante cut-off-Werte heranziehen (Dweik et al., 2011). Auf Basis dieser Empfehlung der Leitlinien der ATS von 2011 wurde für die FE_{NO}-Werte in der vorliegenden Studie keine Anpassung vorgenommen.

Zweitens stellt sich bei diagnostischen Tests grundsätzlich das Problem, dass cut-off Werte, die anhand einer gewissen Studienpopulation unter bestimmten Voraussetzungen ermittelt wurden, nicht unbedingt bei einer anderen Population genauso anwendbar sein werden. Um die tatsächliche diagnostische Aussagekraft eines Indextests beurteilen zu können, sollten also mehrere unabhängige Studien durchgeführt werden (Sackett and Haynes, 2002).

Grundsätzlich sollte man sich demnach bei einem Einsatz der FE_{NO}-Messung in der Diagnostik an cut-off Werten anstelle von Referenz- oder Normwerten orientieren, die jedoch an unabhängigen Populationen validiert werden sollten.

4.1.5. Einschränkungen der Studie

Bevor die Ergebnisse der Studie diskutiert werden können, sollen zunächst noch mögliche Einschränkungen betrachtet werden, welche die Aussagekraft und eine Verallgemeinerung der Ergebnisse beeinträchtigen könnten. Zum Einen gaben nur 128 Probanden (32,5%) eine Sputumprobe ab. Dementsprechend war die Gruppe mit neutrophiler Entzündung im Sputum mit nur 19 Personen insgesamt und darunter lediglich fünf Asthmatikern klein. Trotzdem konnte die diagnostische Genauigkeit der FE_{NO}-Messung unter Einbeziehung der Sputumprobe und sogar nochmals bei anschließendem Ausschluss einer neutrophilen Entzündung gesteigert werden, ohne dass diese Patienten Hinweise auf ein schwereres Asthma lieferten und nur deshalb ein besserer diagnostischer Wert erzielt worden wäre.

Zum Anderen wurde bei einigen Probanden ein Asthma bronchiale trotz inkompletter Antwort im Bronchodilatationstest diagnostiziert. Das bedeutet, dass in diesen Fällen nach Bronchospasmolyse nicht die erforderlichen 12% oder mindestens 200ml Steigerung der FEV₁ erreicht werden konnten, klinisch aber trotzdem Anzeichen für ein

Asthma bronchiale bestanden. Die endgültige Abgrenzung zwischen COPD und Asthma in diesen Fällen hätte am ehesten durch einen längeren Therapieversuch mit inhalativen Steroiden erfolgen müssen. Dies war jedoch in dem Studiendesign nicht vorgesehen und im Nachhinein nicht durchführbar. Demnach erfolgte in diesen Fällen die Diagnosestellung anhand der klinischen Erfahrung der Pneumologen. Eine Sensitivitätsanalyse unter Ausschluss der Patienten mit inkompletter Antwort im Bronchodilatationstest konnte eine mögliche Beeinträchtigung der diagnostischen Genauigkeit ausschließen.

Auch nach erfolgter Methacholin-Provokation wurde in manchen Fällen die Diagnose Asthma bronchiale nicht streng nach Zahlenwerten der Lungenfunktion sondern in Zusammenschau mit dem klinischen Bild gestellt. Die Diagnosen wurden jedoch von einem Expertengremium auf ihre Validität hin überprüft. Eine Sensitivitätsanalyse konnte schließlich zeigen, dass die diagnostische Genauigkeit sogar höher war, wenn die Pneumologen zusätzlich zu den objektiven Zahlenwerten der Lungenfunktion auch klinische Parameter wie Anamnese und Symptome in die Diagnostik einbezogen.

Ein weiterer Kritikpunkt besteht in der fehlenden Dokumentation der Nonresponder. Deren Zahl dürfte jedoch auf Grund der wenigen Ausschlusskriterien, um eine klinisch relevante Population zu erzeugen und der hohen Akzeptanz unter den potentiellen Probanden äußerst gering sein. Es ist demnach keine statistisch relevante Zahl von Nonrespondern zu erwarten.

So dürften die genannten Einschränkungen zum Einen insgesamt keinen Einfluss auf die Aussagekraft der Ergebnisse und deren Verallgemeinerung haben, und zum Anderen sogar verdeutlichen, dass der Ablauf der Studie eine sehr gute Abbildung der realen pneumologischen Diagnostik darstellt.

4.2. Diagnostische Genauigkeit von FE_{NO}

4.2.1. Reproduzierbarkeit der FE_{NO}-Messung mit NIOX MINO[®]

Sowohl die Reliabilität des tragbaren NIOX MINO[®] als auch die Übereinstimmung zwischen NIOX MINO[®] und NIOX[®] Flex wurden bislang an Studienpopulationen untersucht, unter denen die Probanden entweder allesamt gesund waren oder bereits mit einer Diagnose versehen waren. Zudem hatten einige Studien strenge

Ausschlusskriterien, die mögliche Störfaktoren der FE_{NO}-Messung eliminieren sollten. Die vorliegende Studie wollte die beiden Kriterien ohne strenge Ausschlusskriterien an einer nicht vorher selektierten Population in einer Lungenarztpraxis untersuchen, um den möglichen Einsatz des tragbaren NIOX MINO[®] in der klinischen Routinediagnostik zu überprüfen.

Die ATS empfiehlt in ihren Leitlinien zur FE_{NO}-Messung von 2005, generell den Mittelwert aus mindestens zwei gültigen Messungen zu bilden (ATS/ERS, 2005). In der vorliegenden Studie sollte untersucht werden, ob eine Messung mit dem tragbaren NIOX MINO[®] verlässliche Ergebnisse liefert, da die Durchführung nur einer Messung aus Zeit- und Kostengründen klinisch wesentlich besser realisierbar wäre. Bei der Frage der Reliabilität des NIOX MINO[®] kamen bis heute einige Autoren zu vielversprechenden Ergebnissen. Die beste Methode zur deren Untersuchung ist der Intra-Klassen-Korrelationskoeffizient (Shrout and Fleiss, 1979). Der Intra-Klassen-Korrelationskoeffizient zeigt generell bei Werten ab 0,6 eine hohe Reproduzierbarkeit der Messung an (Faul et al., 1999). Gill et al. untersuchten 20 Kinder und Erwachsene, darunter Gesunde und Asthmatiker. Diese kleine Kohorte lieferte bei drei Messungen eine Intra-Klassen-Korrelation von 0,987 (95%KI 0,978-0,997) (Gill et al., 2006). Die sehr hohe Übereinstimmung wurde von Kharitonov et al. bei 59 Patienten und ebenso drei Messungen sogar noch übertroffen (0,99) (Kharitonov et al., 2003). In der vorliegenden Studie wurde bei 95 Probanden mit jeweils drei Messungen eine vergleichbare Intra-Klassen-Korrelation von 0,969 (95%KI 0,956-0,978) nachgewiesen. Auch Alving et al. und Korn et al. bescheinigten dem NIOX MINO[®] eine gute klinische Wiederholbarkeit der FE_{NO}-Messungen mit Werten für die mittlere Wiederholbarkeit um 1 ppb (Alving et al., 2006; Korn et al., 2010). Die in der vorliegenden Studie ermittelte Reliabilität übertraf gar den Intra-Klassen-Korrelationskoeffizienten von 0,87 aus zwei Messungen mit der Chemoluminiszenztechnik (Pijnenburg et al., 2005). Khalili et al. bestätigten für das tragbare Gerät insgesamt zwar auch eine gute Reliabilität, da bei ihnen drei Folgemessungen keine signifikante intraindividuelle Variabilität zeigten, sie fanden jedoch einen Variationskoeffizienten von 9,15% (Spannweite 0-44,61%) für drei Messungen mit NIOX MINO[®]. In dieser Studie wurden 110 Asthmatiker im Alter zwischen sechs und 86 Jahren untersucht. Die Population wurde zudem strengen Ausschlusskriterien unterworfen. Es wurden Raucher ausgeschlossen sowie vorherige Anstrengung und nitratreiche Ernährung (Khalili et al., 2007). In der vorliegenden Studie wurde ein sehr ähnlicher Variationskoeffizient ermittelt (8,9%; Spannweite 0-32%). Daraus lässt sich schließen, dass die Streuung der Messungen bei einer stark

selektierten Population mit bekannter Diagnose mit der von nicht bereits diagnostizierten Probanden gut vergleichbar ist und eventuelle Störfaktoren die Streuung der Werte nicht beeinflussen. Der ermittelte Variationskoeffizient blieb innerhalb der vom Hersteller angegebenen maximalen Streuung von $\leq 10\%$ Messwerte über 50 ppb beziehungsweise ± 5 ppb unter 50 ppb. Von Taylor et al. konnte eine stabile Reliabilität über einen Zeitraum von zwei Monaten gezeigt werden, in denen exzellente Werte für den Variationskoeffizienten erreicht wurden (4,2%) (Taylor et al., 2011). Dieses Ergebnis spricht zusätzlich für einen Einsatz des Geräts in der klinischen Praxis, bei dem langfristig zuverlässige Werte gemessen werden müssen. Selby et al. widersprachen der guten Reliabilität in einer Studie mit jeweils zwei Messungen an Kindern und Jugendlichen (Selby et al., 2010). Sie fanden einen statistisch signifikanten Unterschied der Mittelwerte zweier Messungen. Dieser Unterschied resultierte jedoch hauptsächlich aus großen Abweichungen bei sehr hohen Werten über 75 ppb, die jenseits des gefundenen cut-off Werts von 71 ppb in der vorliegenden Studie lagen und damit klinisch weniger Relevanz besitzen dürften. In der vorliegenden Studie konnte darüber hinaus kein signifikanter Unterschied der Mittelwerte zwischen den drei Messungen festgestellt werden.

Auf Grund der hohen Reliabilität der drei FE_{NO} -Messungen mit dem tragbaren NIOX MINO[®] und der guten Übereinstimmung mit Ergebnissen aus Studien mit stärker selektierten Probanden kann man für klinische Messungen einen einzelnen FE_{NO} -Wert als verlässliches Resultat zur Interpretation ansehen. Jüngst haben Kapande et al. in einer großen Untersuchung an 599 gesunden, allergischen und asthmatischen Kindern die Validität einer einzelnen Messung über den gesamten FE_{NO} -Messbereich bestätigt. Bei jeweils zwei Messungen mit NIOX MINO[®] wurde eine sehr gute Konkordanz-Korrelation von $\rho = 0,98$ ermittelt (Kapande et al., 2012).

4.2.2. Übereinstimmung von NIOX MINO[®] mit NIOX[®] Flex

Um den routinemäßigen Einsatz des tragbaren Geräts NIOX MINO[®] in der Praxis zu überprüfen, wurde ein Vergleich mit der anerkannten chemolumineszenzbasierten Technik vorgenommen (NIOX[®] Flex). In einigen Studien wurde die Übereinstimmung beider Geräte getestet und für klinisch akzeptabel bis gut befunden, jedoch wurden einerseits auch darin nur bereits diagnostizierte Patienten einbezogen, andererseits

herrscht bislang keine Einigkeit darüber, welche Methode tendenziell höhere Messwerte liefert. Denn einige Studien fanden etwas höhere Werte für NIOX MINO[®] (Alving et al., 2006; Khalili et al., 2007; Korn et al., 2010; Menzies et al., 2007; Pizzimenti et al., 2008), bei anderen ergab jedoch NIOX[®] Flex leicht höhere Werte (Hemmingsson et al., 2004; McGill et al., 2006). Die vorliegende dürfte die erste Studie sein, welche die Übereinstimmung beider Geräte an einem unabhängigen, nicht bereits diagnostizierten Kollektiv untersucht hat. Jedoch ist bei Vergleichen mit anderen Arbeiten zu beachten, dass die meisten Studien das Vorgängermodell von NIOX[®] Flex, nämlich NIOX[®] zum Vergleich herangezogen haben. Deren sehr gute Übereinstimmung wurde jedoch von Korn et al. nachgewiesen (Korn et al., 2010). Somit sollte ein direkter Vergleich mit Untersuchungen, die das ältere Modell NIOX[®] verwendet haben, ohne Einschränkung möglich sein.

Auffällig war bei dem Vergleich der beiden Geräte mit der klinisch relevanten ersten Messung mit NIOX MINO[®] - bei grundsätzlich guter Übereinstimmung beider Geräte - eine signifikante Abhängigkeit vom Alter der Probanden ($R^2= 0,093$; $p= 0,003$). Betrachtete man nur ältere Patienten über dem Median von 45 Jahren, so stieg bei diesen die mittlere Abweichung bei einer einzelnen Messung mit NIOX MINO[®] in den Bereich von etwa 10% niedrigerer Messwerte für NIOX MINO[®]. Dies entspräche bei einem cut-off von 71 ppb zur Diagnosestellung eines Asthma bronchiale einer Abweichung von etwa 7 ppb. Aus klinischer Sicht scheint dies jedoch noch akzeptabel, da der cut-off Wert in der Praxis ohnehin einen gewissen Spielraum in Zusammenschau mit der Klinik der Patienten lässt. Diese Abweichung wäre auch noch gut mit den vom Hersteller vorgegebenen Grenzwerten vereinbar. Zog man hingegen für den Vergleich der beiden Geräte den Mittelwert aus drei Messungen mit NIOX MINO[®] heran, war keine signifikante Abhängigkeit vom Alter mehr nachweisbar ($R^2= 0,029$; $p= 0,097$). Somit ist davon auszugehen, dass der beobachtete Effekt seinen Ursprung nicht in der Mechanik des Gerätes oder des Atemmanövers hat, da sonst eine persistierende Signifikanz auch bei wiederholten Messungen zu erwarten wäre. Da es bislang keine eindeutigen Hinweise auf den beschriebenen Effekt gibt, müsste nun an einem unabhängigen Kollektiv überprüft werden, ob wiederholt signifikante Abweichungen zwischen beiden Geräten in höherem Alter nachweisbar sind und man für eine Einzelmessung mit NIOX MINO[®] allenfalls eine Anpassung der FE_{NO}-Werte in höherem Alter in Erwägung ziehen sollte.

Im Bereich unter 45 Jahren war fast keine mittlere Abweichung der FE_{NO}-Werte beider Geräte zu beobachten. Betrachtete man das Gesamtkollektiv, so lag die

Übereinstimmung der beiden untersuchten Geräte in einem ähnlich hohen Bereich, wie sie in vorherigen Studien an bereits diagnostizierten oder gänzlich gesunden Probanden gezeigt werden konnte. Bei Menzies et al. ergaben sich in einer Studie an 101 Erwachsenen sehr hohe Korrelationen zwischen NIOX MINO[®] und NIOX[®] von $r=0,94$ bei Asthmatikern und $r=0,96$ bei Gesunden (Menzies et al., 2007). Auch andere Autoren fanden Werte über $r=0,9$ (Khalili et al., 2007; Korn et al., 2010; Pizzimenti et al., 2008). In der vorliegenden Studie wurden ähnliche Korrelationen von mindestens $r=0,95$ für die Gesamtpopulation gefunden.

Da jedoch eine hohe Korrelation wegen einer möglichen systematischen Verschiebung nicht unbedingt die tatsächliche Übereinstimmung zweier Methoden wiedergibt, sollte man zusätzlich einen Bland-Altman-Plot einbeziehen. Darin wird die Streuung der Differenzen einzelner Messwertepaare und nicht nur die Verzerrung mittels durchschnittlicher Differenz der Messwerte wie bei einem gepaarten t-Test betrachtet (Grouven et al., 2007). Bei Alving et al. zeigte der Bland-Altman-Plot bei 75 jungen und erwachsenen Atopikern, Asthmatikern und Gesunden eine gute Übereinstimmung zwischen NIOX MINO[®] und NIOX[®], sowohl mit einer Messung mit NIOX MINO[®] als auch mit dem Mittelwert aus drei Messungen. Im Median lagen hier die Werte mit NIOX MINO[®] bei einer einzelnen Messung 2,0 ppb höher als mit NIOX[®]. Allerdings wurden in dieser Untersuchung die FE_{NO}-Werte nicht zur Normalverteilung auf eine log-Skala übertragen (Alving et al., 2006). Khalili et al. konnten diesen Grad der Übereinstimmung bestätigen. Auch hier hatte NIOX MINO[®] eine Tendenz zu höheren Messwerten als NIOX[®] Flex (Khalili et al., 2007). Menzies et al. fertigten Bland-Altman-Plots mit log-transformierten Werten an. Aus diesen ließ sich graphisch eine sehr hohe mittlere Übereinstimmung beider Geräte ablesen. Auch hier bestand eine Tendenz zu höheren Werten mit NIOX MINO[®] (Menzies et al., 2007). In der vorliegenden Studie bestätigte sich dieser hohe Grad der Übereinstimmung beider Geräte, allerdings bestand eine Tendenz zu niedrigeren Werten mit NIOX MINO[®]. Zur besseren Quantifizierung des Unterschieds der Messwerte wurde neben der graphischen Darstellung im Bland-Altman-Plot die mittlere prozentuale Abweichung der Messwerte voneinander berechnet. Diese erschien für eine Einschätzung der Übereinstimmung besonders anschaulich, da man hiermit die mittlere Abweichung gerade im Bereich der cut-off Werte berechnen konnte. Dort wären schließlich Abweichungen von besonderer klinischer Relevanz, weil es darum geht, eine sichere Diagnose stellen zu können. Bei einem angenommenen oberen cut-off-Wert von 71 ppb würde die ermittelte prozentuale Abweichung von -6,6% für eine Messung mit NIOX MINO[®] eine absolute Abweichung

von 4,7 ppb bedeuten. Diese läge innerhalb der vom Hersteller angestrebten Grenzen der Genauigkeit für den Vergleich von NIOX MINO[®] mit einem chemoluminiszenzbasierten Gerät. Es werden von Aerocrine Abweichungen von weniger als 10 ppb unter 50 ppb und weniger als 20% über 50 ppb versprochen (Aerocrine AB, 2013).

Neben der Analyse im Hinblick auf verschiedene Altersgruppen, wurde eine Subgruppierung bezüglich unterschiedlicher FE_{NO}-Werte vorgenommen. In dem Bland-Altman-Plot fiel eine größere Streuung im Bereich unter log₁₀ von 1,3 auf (entspricht 20 ppb), sodass dieser als Trennwert verwendet wurde. Durch die Teilung der Gruppen bei einem deutlich höheren FE_{NO}-Wert wäre zudem die betrachtete Gruppe zu klein für eine valide Aussage geworden.

Die mittlere Abweichung verhielt sich über den gesamten Messbereich konstant, jedoch fiel bei Messwerten unter 20 ppb ein relativ breites Konfidenzintervall auf. In diesem Bereich sind demnach einzelne Wertepaare zu erwarten, die eine größere Differenz aufweisen. Dies ist gut vereinbar mit dem Befund bei Menzies et al. für Asthmatiker. Sie konnten für diese Untergruppe eine größere Streuung bei niedrigen FE_{NO}-Werten nachweisen. Die Streuung bei gesunden Probanden fiel in diesem Messbereich geringer aus (Menzies et al., 2007). Daraus lässt sich ableiten, dass bei Asthmatikern mit niedrigen FE_{NO}-Werten die Übereinstimmung der beiden FE_{NO}-Messgeräte schwächer ist. Da man in diesem Bereich neben Nicht-Asthmatikern vorrangig Asthmatiker mit neutrophiler Entzündung erwarten würde, bei denen die FE_{NO}-Messung ohnehin häufig falsch niedrige Ergebnisse liefert, sollte sich die klinische Relevanz dieser Abweichung in Grenzen halten.

Die vorliegende Untersuchung bestätigte die gute Wiederholbarkeit der FE_{NO}-Messungen mit NIOX MINO[®] und die hohe Übereinstimmung von Messungen mit NIOX MINO[®] und NIOX[®] Flex für klinische Anwendungen bei einer nicht vorselektierten, nicht bereits diagnostizierten Population. Aus unserer Sicht kann das tragbare Gerät gut in der klinischen Routine eingesetzt werden. Eine einzelne Messung, die aus zeitlichen und finanziellen Gründen wünschenswert wäre, liefert valide Ergebnisse. In Zukunft sollte jedoch in weiteren unabhängigen Studien überprüft werden, ob man eine Anpassung der FE_{NO}-Werte bei Patienten über 45 Jahren vornehmen sollte.

4.2.3. Diagnostischer Wert der FE_{NO}-Messung unter Berücksichtigung der Sputumzytologie

Die Frage nach dem diagnostischen Nutzen der FE_{NO}-Messung wurde in den letzten Jahren kontrovers diskutiert. Viele Autoren sehen in ihr sowohl für Erwachsene als auch für Kinder ein gutes zusätzliches diagnostisches Instrument (Berkman et al., 2005; Deykin et al., 2002; Dupont et al., 2003; Malmberg et al., 2003; Smith et al., 2004). 2011 wurde in einer klinischen Praxisleitlinie der ATS zur Interpretation der FE_{NO}-Messung der Vorschlag verankert, die Stickoxidsmessung zur Unterstützung bei der Asthmadagnostik heranzuziehen (Dweik et al., 2011). Allerdings wurde darin lediglich eine schwache Empfehlung mit einer mäßigen Beweisqualität für den Einsatz in der Diagnostik ausgesprochen. Auch für die Nutzung von cut-off Werten statt Referenzwerten gab es in dieser Leitlinie nur eine schwache Empfehlung. Der Evidenzgrad wurde diesbezüglich sogar nur als gering eingeschätzt (Dweik et al., 2011). Insofern erschien es sinnvoll, den diagnostischen Nutzen der FE_{NO}-Messung und die Festlegung von cut-off Werten für die klinische Praxis an einer unabhängigen Kohorte zu überprüfen, insbesondere unter Berücksichtigung eines diagnostischen Zusatzinstruments. Da es gute Hinweise auf den Nutzen von spontanem Sputum bei der Asthma-Diagnostik gibt und diese Analyse grundsätzlich in der Routinediagnostik praktikabel wäre (Holz et al., 2008), wurde diese Methode mit einbezogen, um den Einfluss des Entzündungsmusters auf den diagnostischen Wert der FE_{NO}-Messung zu untersuchen.

4.2.3.1. Gesamtkollektiv

Die Ergebnisse der Untersuchung zeigen für die FE_{NO}-Messung allein im Bezug auf die gesamte Studienpopulation eine unbefriedigende diagnostische Genauigkeit. Bis zu einem FE_{NO}-Wert von 9 ppb konnte mit einer Sensitivität von 96% und einem NPV von 82% ein Asthma ausgeschlossen werden. Erst über einem FE_{NO}-Wert von 71 ppb war mit einer Spezifität von 97% und einem PPV von 80% die Stellung der Diagnose Asthma ausreichend zuverlässig möglich. Diese gefundenen cut-off Werte stehen allerdings in gutem Einklang mit vorher durchgeführten Studien (Fortuna et al., 2007; Schleich et al., 2012, Schneider et al., 2009; Travers et al., 2007). Fortuna et al. erreichten bei einem FE_{NO}-Wert von 23 ppb die höchste Summe aus Spezifität (64%)

und Sensitivität (77%) zur Abgrenzung der Diagnose Asthma bronchiale (Fortuna et al., 2007). In dieser Studie wurden jedoch Probanden mit Infekten oder Atopie ausgeschlossen, die den FE_{NO}-Wert hätten beeinflussen können. Insofern wurde hier nicht in vollem Maße die klinische Realität abgebildet. Auch Travers et al. fanden in ihrer Erhebung an 528 Probanden einen niedrigeren cut-off Wert von 50 ppb bei einer Spezifität von 96% und einer Sensitivität von 19% (Travers et al., 2007). In dieser Erhebung wurde zum Einen kein PPV berechnet, die AUC von lediglich 0,54 deutet zum Anderen auf ein eher niedriges diagnostisches Potenzial hin. Die Population unterscheidet sich deutlich von der vorliegenden Studie, da die Patienten größtenteils bereits mit einer Diagnose versehen waren und bisweilen schon unter medikamentöser Therapie standen, sodass nur eine mäßige Vergleichbarkeit besteht. Eine neue Untersuchung von Schleich et al. aus dem Jahr 2012 betrachtete die Vorhersage einer positiven Methacholin-Provokation und damit der Diagnose Asthma durch FE_{NO} (Schleich et al., 2012). Diese Untersuchung lieferte zwar auch einen vermeintlich niedrigen cut-off Wert von 34 ppb mit einer Spezifität von 95% und einem PPV von 88%. Dabei muss man jedoch die relativ hohe Vortestwahrscheinlichkeit der Diagnose Asthma von 47% bedenken, die dem Bayes'schen Theorem zufolge bereits bei einem niedrigeren FE_{NO}-Wert zu einem höheren PPV führt. Die AUC von 0,62 in der ROC-Analyse spricht für eine ähnliche, sogar ein wenig schwächere diagnostische Aussagekraft als in der vorliegenden Studie (AUC= 0,656).

Auch in einer von Schneider et al. durchgeführten Untersuchung an 160 Patienten, die mit Verdacht auf eine obstruktive Atemwegserkrankung eine Hausarztpraxis aufsuchten, ergab sich auf Grund einer recht hohen Prävalenz von 46,9% ein niedrigerer oberer cut-off Wert zum rule-in von 46 ppb (gegenüber 71 ppb in der vorliegenden Studie) (Schneider et al., 2009). Eine ROC-Analyse für die diagnostische Genauigkeit der FE_{NO}-Messung lieferte hier fast identische Werte der AUC (0,642 gegenüber 0,656 in der vorliegenden Studie). Die unteren cut-off Werte zum rule-out eines Asthma lagen ebenso dicht zusammen (12 ppb gegenüber 9 ppb in der vorliegenden Studie). Es mussten in dieser Untersuchung von Schneider et al. drei Patienten mit FE_{NO} gemessen werden, um eine Bronchoprovokation einzusparen (Schneider et al., 2009). In der vorliegenden Studie lagen von 393 Probanden 38 unter dem cut-off Wert von 9 ppb und 34 über dem cut-off Wert von 71 ppb, bei denen somit ein relativ sicherer Ein- oder Ausschluss eines Asthma erfolgen konnte. Daraus ergab sich eine number needed to diagnose von fünf Probanden, die mittels FE_{NO} untersucht werden müssen, um eine Bronchoprovokation überflüssig zu machen. Die

diagnostische Effektivität der FE_{NO}-Messung allein stellte sich also im direkten Vergleich zu der Studie von Schneider et al. 2009 als niedriger heraus, bei einem gleichzeitig sehr hohen cut-off Wert zum rule-in von Asthma bei 71 ppb.

Bei einer number needed to diagnose von fünf Probanden und einem oberen cut-off Wert von 71 ppb stellt sich die Frage, ob eine ausschließliche Diagnostik mit dem FE_{NO}-Gerät zielführend sein und eine ausreichende diagnostische Sicherheit bieten kann.

4.2.3.2. Patienten mit Sputumprobe

Eine wichtige Rolle bei der Interpretation von FE_{NO}-Werten spielt die zugrundeliegende Entzündung der Atemwege. Die klinische Praxisleitlinie der ATS zur Interpretation der FE_{NO}-Messung spricht eine starke Empfehlung dafür aus, die FE_{NO}-Messung in der Diagnostik einer eosinophilen Entzündung der Atemwege einzusetzen (Dweik et al., 2011). Es konnte vielfach gezeigt werden, dass eine gute Übereinstimmung zwischen FE_{NO} und Eosinophilen im Sputum sowohl bei Erwachsenen als auch Kindern besteht (Berry et al., 2005; Dweik et al., 2010; Hastie et al., 2010; Mattes et al., 1999; Porsbjerg et al., 2009; Schleich et al., 2010). Die vorliegende Untersuchung konnte zum Einen bestätigen, dass eine Eosinophilie mit sehr hohen FE_{NO}-Werten einhergeht und zum Anderen zeigen, dass die FE_{NO}-Messung ein großes Potenzial zur Erkennung beziehungsweise zum Ausschluss eines eosinophilen Asthma bronchiale bietet. Zwar läge der cut-off Wert mit einem möglichst hohen PPV zur Stellung der Diagnose eines eosinophilen Asthma bei 77 ppb. Dies liegt jedoch an der sehr geringen Vortestwahrscheinlichkeit von 20,3%. Die hohe AUC von 0,793 in der ROC-Analyse spricht für eine sehr gute diagnostische Wertigkeit. Betrachtet man die konstant hohen Werte für das NPV von bis zu 100% bei einem cut-off Wert von 9 ppb, jedoch bereits bei unter 30 ppb über 90%, deutet dies auch auf ein gutes Vermögen der FE_{NO}-Messung hin, ein eosinophiles Asthma auszuschließen (siehe Tabelle 21). Die sichere Abgrenzung eines eosinophilen Asthma könnte von großem therapeutischem Nutzen sein. Bei diesen Patienten zeigen inhalative Kortikoide eine gute Wirkung (Berry et al., 2007). Smith et al. stellten fest, dass mittels FE_{NO}-Messung das Ansprechen auf inhalative Kortikoide vorhergesagt werden kann. Sie bekräftigten sogar, die Therapie vorrangig von der mittels FE_{NO} gemessenen Entzündung der Atemwege - unabhängig von der Diagnose Asthma - abhängig zu machen (Smith et al., 2005). So könnte die

Entscheidung über ein inhalatives Kortikoid direkt anhand der FE_{NO}-Messung beurteilt werden.

Jedoch kommen neben der eosinophilen Entzündung auch Subtypen des Asthma bronchiale mit vorwiegend neutrophiler Entzündung vor (Berry et al., 2007; Gibson et al., 2001). Gerade dieser Phänotyp verdient möglicherweise besondere Aufmerksamkeit, da die Patienten meist unter schwererem Asthma mit der Notwendigkeit einer hoch dosierten Einnahme von systemischen Steroiden leiden (Moore et al., 2010). Der wahrscheinliche pathophysiologische Zusammenhang für diese Beobachtung ist die Verhinderung der Apoptose von Neutrophilen durch Kortikoide (Cox, 1995). Eine systemische Steroidtherapie kann wohl zusätzlich die Rekrutierung von Neutrophilen in den Atemwegen fördern (Nguyen et al., 2005). Das Ansprechen dieser Gruppe mit neutrophilem Asthma auf inhalative Steroide scheint jedoch insgesamt deutlich schlechter zu sein als bei Asthma mit eosinophiler Entzündung (Green et al., 2002).

Es gibt Hinweise darauf, dass der FE_{NO}-Wert bei einer vorwiegend neutrophilen Entzündung durch eine Oxidantienproduktion in der Lunge - vor allem H₂O₂ - vermindert wird (Wewel et al., 2006). Tatsächlich haben Porsbjerg et al. festgestellt, dass ein Asthma mit vorherrschend neutrophiler Entzündung im Sputum zu einem FE_{NO}-Wert führt, der signifikant niedriger ist als der aller anderen Zellmuster (Porsbjerg et al., 2009). In ihrer Untersuchung lag der FE_{NO}-Wert für eine neutrophile Entzündung bei durchschnittlich 12 ppb, wohingegen ein eosinophiles Asthma mit einem mittleren FE_{NO}-Wert von 77 ppb einherging. Jedoch zogen sie keine Schlüsse, welche Auswirkungen sich daraus auf die diagnostische Genauigkeit der FE_{NO}-Messung ergeben.

Die Gruppe der Patienten mit abgegebener Sputumprobe wurde vor und nach Ausschluss der Probanden mit neutrophilen Granulozyten analysiert. In unserer Untersuchung konnten ähnlich eklatante Unterschiede der FE_{NO}-Werte im Bezug auf das Zellmuster der Sputumprobe gefunden werden wie bei Porsbjerg et al. (Porsbjerg et al., 2009). Asthmatiker mit Eosinophilen hatten im Mittel einen FE_{NO}-Wert von 44,3 ppb, wohingegen Asthmatiker mit Neutrophilen lediglich einen Mittelwert von 18,5 ppb aufwiesen. Dieser lag damit sogar unter dem durchschnittlichen Wert von 23,1 ppb aller Nicht-Asthmatiker. Eine Sensitivitäts-Spezifitäts-Analyse unter Ausschluss der neutrophilen Asthmatiker zeigte eine deutliche Verbesserung der diagnostischen Aussagekraft. Durch die Vermeidung von falsch negativen FE_{NO}-Werten bei Neutrophilie konnte so bereits ab einem FE_{NO}-Wert von 31 ppb mit einer Sicherheit von 82% (PPV) ein Asthma bronchiale diagnostiziert werden. Von den 109 Probanden ohne

Neutrophile in der Sputumprobe konnte bei 27 mit einem FE_{NO} von mehr als 31 ppb relativ sicher ein Asthma eingeschlossen und bei 26 Probanden mit höchstens 12 ppb relativ sicher ein Asthma ausgeschlossen werden. Durch den Ausschluss einer Neutrophilie wurde die Rate derer mit indifferenten FE_{NO}-Werten von ursprünglich 81,7% auf nunmehr 51,4% in der Gesamtpopulation gesenkt. Daraus resultierte eine number needed to diagnose von lediglich zwei Probanden, die mit dem FE_{NO}-Gerät untersucht werden müssten, um eine Bronchoprovokation einzusparen.

Aber auch in der Gruppe aller Probanden, die eine Sputumprobe abgegeben hatten, verbesserte sich die number needed to diagnose leicht im Vergleich zu der Gesamtpopulation von fünf auf drei. Einen gewissen Anteil an diesem Befund hat sicherlich die etwas höhere Asthma-Prävalenz von 42,2% gegenüber 39,1% in der Gesamtpopulation, die allein zu einer etwas besseren diagnostischen Genauigkeit führt. Ein weiterer, qualitativer Faktor ist wohl die Annahme, dass Patienten, die einen höheren subjektiven Leidensdruck verspürten, eher eine Sputumprobe eingeschickt haben, als Probanden mit einem milderem Befund. Einen weiteren Anteil an der Verbesserung der diagnostischen Genauigkeit und der number needed to diagnose hat die Verteilung des Zellmusters. Ein großer Teil der Asthmatiker mit pathologischem Zellmuster wies eine Eosinophilie im Sputum auf (n=26). Nur bei Fünf überwogen Neutrophile, die restlichen Probanden hatten unverdächtiges Zellmaterial und ein Proband Lymphozyten in seiner Probe. Somit dürfte in dieser Untergruppe die Anzahl der richtig positiven - also hohen - FE_{NO}-Werte bei Asthmatikern überwiegen. Der gefundene obere cut-off Wert von 41 ppb für diese Gruppe stimmt überdies sehr gut mit dem von Schleich et al. etablierten cut-off Wert von 42 ppb für die Unterscheidung eines eosinophilen von einem nicht-eosinophilen Asthma überein (Schleich et al., 2010).

Die Ergebnisse konnten zeigen, dass häufig die zusätzliche Analyse von spontanem Sputum nötig wäre, um eosinophiles Asthma von nicht-eosinophilen Formen unterscheiden zu können. Als alleiniges Instrument liefert die FE_{NO}-Messung gerade bei neutrophilem Asthma oftmals irreführende Werte, sodass ihre diagnostische Genauigkeit zu niedrig für einen Einsatz in der Routinediagnostik ausfällt. Diese Einschätzung folgt der Empfehlung der ATS, die FE_{NO}-Messung allenfalls gemeinsam mit anderen Parametern zur Diagnostik des Asthma bronchiale einzusetzen, nicht jedoch alleine (Dweik et al., 2011). Die Analyse von spontanem Sputum zur Differenzierung des Entzündungstyps wäre zwar grundsätzlich für einen Einsatz in der klinischen Praxis geeignet, ließ sich aber bisher wegen doch erheblichen Aufwands nicht etablieren. Somit kann derzeit die FE_{NO}-Messung allenfalls bei sehr hohen cut-off-

Werten beziehungsweise gut selektionierten Patienten in der Diagnostik eingesetzt werden.

4.3. Ausblick

FE_{NO} ist seit nunmehr 20 Jahren wohl der Biomarker, der in der Pneumologie am meisten für Aufsehen gesorgt hat. In der Routinediagnostik dieses Fachbereichs lässt sich jedoch die seit langem bewährte Bronchoprovokation bei unschlüssigen Ergebnissen in der Spirometrie wohl kaum durch die FE_{NO}-Messung ersetzen. So wird die FE_{NO}-Messung bislang auch nicht als Kassenleistung anerkannt, obwohl sie bei einigen Patienten mit bestimmten Voraussetzungen - nämlich einer vorherrschenden Eosinophilie - durchaus sinnvoll wäre. Wir konnten zeigen, dass die FE_{NO}-Messung sehr gut zur Erkennung eines eosinophilen Asthma geeignet ist. Bedenkt man das gute Ansprechen eines Asthma bronchiale mit vorherrschender Eosinophilie auf inhalative Kortikoide, so könnte hier ein sinnvolles Einsatzgebiet in der Therapieplanung im Hinblick auf eine personalisierte Medizin liegen.

In Zukunft sollte in weiteren Studien die Möglichkeit untersucht werden, die Voraussage einer Eosinophilie bzw. einer Steroid-Response durch die FE_{NO}-Messung in der klinischen Routine diagnostisch und therapeutisch zu nutzen.

5. Zusammenfassung

Einleitung: Die Diagnostik von Asthma bronchiale stützt sich bislang - vor allem bei milden Symptomen - im Wesentlichen auf den Nachweis einer Hyperreagibilität des Bronchialsystems durch die Methacholin-Provokation. Die Abbildung der Inflammation gewinnt als mögliche Alternative zu dieser für die Patienten unangenehmen Untersuchung zunehmend an Bedeutung. Indirekt lässt sie sich durch das fraktionierte exhalierte Stickoxid (FE_{NO}) bestimmen. Eine direkte Methode stellt die Analyse von spontanem Sputum zur Differenzierung zwischen eosinophilem und neutrophilem Asthma dar. Ziel dieser Studie war es, die diagnostische Genauigkeit der FE_{NO} -Messung bei Verdacht auf Asthma bronchiale im Rahmen der pneumologischen Routinediagnostik unter Berücksichtigung einer Analyse von spontanem Sputum zu ermitteln. Zusätzlich sollte ein Gerät zur FE_{NO} -Messung auf seine Praxistauglichkeit hin überprüft werden.

Material und Methoden: In eine prospektive diagnostische Studie wurden 393 Patienten eingeschlossen, die mit dem Verdacht auf eine obstruktive Atemwegserkrankung zum ersten Mal eine pneumologische Praxis aufsuchten. Als Indextest diente die Messung von FE_{NO} . Zusätzlich wurde spontanes Sputum semi-quantitativ analysiert. Referenzstandard war die pneumologische Diagnostik gemäß internationaler Leitlinien mit initialem forciertem Atemmanöver und, abhängig von dem Obstruktionsgrad, Bronchodilatationstest oder Methacholin-Provokation durch Bodyplethysmographie.

Ergebnisse: Bei 104 Probanden wurden drei aufeinander folgende FE_{NO} -Messungen mit dem tragbaren NIOX MINO[®] durchgeführt. Der ermittelte Intra-Klassen-Korrelationskoeffizient von 0,969 zeigte eine gute Reliabilität des Geräts an.

Die Messwerte von 95 Patienten gingen in die Untersuchung der Übereinstimmung des tragbaren NIOX MINO[®] mit dem stationären NIOX[®] Flex ein. In Bland-Altman-Plots zeigte sich eine gute Übereinstimmung beider Geräte für den klinischen Einsatz mit einer Tendenz zu niedrigeren FE_{NO} -Werten mit NIOX MINO[®].

Bei 154 Patienten (39,2%) wurde ein Asthma bronchiale diagnostiziert, 5 Patienten (1,3%) hatten eine COPD. Die höchsten FE_{NO} -Werte wurden mit durchschnittlich 42,4 ppb bei Asthmatikern festgestellt. Patienten mit COPD wiesen mit 16,6 ppb die

niedrigsten mittleren FE_{NO}-Werte auf, Probanden ohne obstruktive Atemwegserkrankung lagen im Mittel bei 22,0 ppb. 128 Patienten (32,6%) gaben eine Sputumprobe ab. Probanden mit Eosinophilen wiesen mit durchschnittlich 44,3 ppb die höchsten FE_{NO}-Werte auf. Eine Neutrophilie ging mit niedrigeren FE_{NO}-Werten einher (18,5 ppb) als eine unauffällige Sputumprobe (23,2 ppb).

Eine ROC-Analyse zur Beurteilung der diagnostischen Genauigkeit von FE_{NO} für alle 393 Patienten ergab eine AUC von 0,656. Unter 9 ppb konnte die Diagnose Asthma mit einer Sicherheit von 82% (NPV) ausgeschlossen und über 71 ppb mit einer Sicherheit von 80% (PPV) gestellt werden. Wurden nur Probanden mit einer Sputumprobe einbezogen (n=128) verbesserte sich die diagnostische Aussagekraft (AUC= 0,724 bei einer Asthmaprävalenz von 42,2%). Ab 41 ppb ließ sich in diesem Fall die Diagnose Asthma mit einer Sicherheit von 80% (PPV) stellen und unter 12 ppb mit einer Sicherheit von 83% (NPV) ausschließen. Wurden schließlich Probanden mit Neutrophilie aus der Analyse ausgeschlossen, verbesserte sich die diagnostische Genauigkeit zusätzlich (AUC= 0,745 bei einer Asthma-Prävalenz von 45,0%). Asthma ließ sich dann über 31 ppb mit einer Sicherheit von 82% (PPV) diagnostizieren und unter 12 ppb mit einer Sicherheit von 81% (NPV) ausschließen. Die Erkennung eines eosinophilen Asthma bronchiale ist ab 77 ppb möglich, der Ausschluss unter 9 ppb (AUC= 0,793 bei einer Prävalenz für eosinophiles Asthma von 25,5%).

Diskussion: Das tragbare FE_{NO}-Gerät NIOX MINO[®] bewies in drei aufeinander folgenden Messungen eine hohe Wiederholungsgenauigkeit, sodass man für den klinischen Einsatz eine einzelne Messung als verlässlich ansehen kann. Der Vergleich zwischen NIOX MINO[®] und dem stationären NIOX[®] Flex deutete auf niedrigere FE_{NO}-Werte mit NIOX MINO[®] hin, wobei vor allem mit zunehmendem Alter die Unterschiede zwischen beiden Geräten größer wurden. Die Abweichungen lagen jedoch innerhalb der vom Hersteller versprochenen Grenzwerte. Für die Routinediagnostik kann NIOX MINO[®] eingesetzt werden.

Die FE_{NO}-Messung ist gut zur Erkennung eines eosinophilen Asthma bronchiale geeignet. Daraus ergibt sich ein möglicher therapeutischer Nutzen bei der Wahl einer inhalativen Kortikoidtherapie. Bei neutrophilem Asthma führt sie jedoch oftmals zu irreführenden beziehungsweise falsch niedrigen Ergebnissen. Für eine sichere Unterscheidung zwischen diesen beiden Entzündungsmustern und damit die Erkennung eines nicht-eosinophilen Asthma bronchiale bräuchte man in vielen Fällen eine zusätzliche Sputumuntersuchung. Diese hat sich jedoch bislang in der

Routinediagnostik nicht durchgesetzt. Sinnvoll wäre es, in weiteren Studien die Möglichkeit zu untersuchen, die Voraussage einer Eosinophilie beziehungsweise einer Steroid-Response durch die FENO-Messung in der klinischen Routine therapeutisch zu nutzen.

6. Literaturverzeichnis

ATS/ERS recommendations for standardized procedures for the online and offline measurement of exhaled lower respiratory nitric oxide and nasal nitric oxide, 2005, *Am J Respir Crit Care Med*, 15 (2005) 912-930.

Aerocrine AB. (2011) NIOX MINO Technical Specifications. (http://www.niox.com/Global/Documents/NIOX_MINO_Technical_Specifications_-_German_EMD-000105-05.pdf)
Stand: 22.02.2015

Alving,K., Janson,C., Nordvall,L., Performance of a new hand-held device for exhaled nitric oxide measurement in adults and children, *Respir Res*, 7 (2006) 67.

Alving,K., Weitzberg,E., Lundberg,J.M., Increased amount of nitric oxide in exhaled air of asthmatics, *Eur Respir J*, 6 (1993) 1368-1370.

American Thoracic Society, Standardization of Spirometry, 1994 Update, *Am J Respir Crit Care Med*, 152 (1995) 1107-1136.

Anderson,J.T., Zeng,M., Li,Q., Stapley,R., Moore,D.R., Chenna,B., Fineberg,N., Zmijewski,J., Eltoun,I.E., Siegal,G.P., Gaggar,A., Barnes,S., Velu,S.E., Thannickal,V.J., Abraham,E., Patel,R.P., Lancaster,J.R., Jr., Chaplin,D.D., Dransfield,M.T., Deshane,J.S., Elevated levels of NO are localized to distal airways in asthma, *Free Radic Biol Med*, 50 (2011) 1679-1688.

Ärztliches Zentrum für Qualität (2009). Nationale Versorgungsleitlinie Asthma. (<http://www.leitlinien.de/nvl/asthma/mdb/downloads/nvl/asthma/asthma-2auf-vers5-lang.pdf>)
Stand: 22.02.2015

Barnes,P.J., Dweik,R.A., Gelb,A.F., Gibson,P.G., George,S.C., Grasemann,H., Pavord,I.D., Ratjen,F., Silkoff,P.E., Taylor,D.R., Zamel,N., Exhaled nitric oxide in pulmonary diseases: a comprehensive review, *Chest*, 138 (2010) 682-692.

Beck-Ripp,J., Griese,M., Arenz,S., Koring,C., Pasqualoni,B., Bufler,P., Changes of exhaled nitric oxide during steroid treatment of childhood asthma, *Eur Respir J*, 19 (2002) 1015-1019.

Berg,J., Lindgren,P., Economic evaluation of FE(NO) measurement in diagnosis and 1-year management of asthma in Germany, *Respir Med*, 102 (2008) 219-231.

Berkman,N., Avital,A., Breuer,R., Bardach,E., Springer,C., Godfrey,S., Exhaled nitric oxide in the diagnosis of asthma: comparison with bronchial provocation tests, *Thorax*, 60 (2005) 383-388.

Bernstein,J.A., Davis,B., Alvarez-Puebla,M.J., Nguyen,D., Levin,L., Olaguibel,J.M., Is exhaled nitric oxide a useful adjunctive test for assessing asthma?, *J Asthma*, 46 (2009) 955-960.

Berry,M., Morgan,A., Shaw,D.E., Parker,D., Green,R., Brightling,C., Bradding,P., Wardlaw,A.J., Pavord,I.D., Pathological features and inhaled corticosteroid response of eosinophilic and non-eosinophilic asthma, *Thorax*, 62 (2007) 1043-1049.

Berry,M.A., Shaw,D.E., Green,R.H., Brightling,C.E., Wardlaw,A.J., Pavord,I.D., The use of exhaled nitric oxide concentration to identify eosinophilic airway inflammation: an observational study in adults with asthma, *Clin Exp Allergy*, 35 (2005) 1175-1179.

Bland,J.M., Altman,D.G., Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement, *Lancet*, 1 (1986) 307-310.

Boot,J.D., de,R.L., de Kam,M.L., Calderon,C., Mascelli,M.A., Diamant,Z., Comparison of exhaled nitric oxide measurements between NIOX MINO electrochemical and Ecomedics chemiluminescence analyzer, *Respir Med*, 102 (2008) 1667-1671.

Brand,P.L., Quanjer,P.H., Postma,D.S., Kerstjens,H.A., Koeter,G.H., Dekhuijzen,P.N., Sluiter,H.J., Interpretation of bronchodilator response in patients with obstructive airways disease. The Dutch Chronic Non-Specific Lung Disease (CNSLD) Study Group, *Thorax*, 47 (1992) 429-436.

Brooks,L.J., Byard,P.J., Helms,R.C., Fouke,J.M., Strohl,K.P., Relationship between lung volume and tracheal area as assessed by acoustic reflection, *J Appl Physiol*, 64 (1988) 1050-1054.

Buhl,R., Berdel,D., Criece,C.P., Gillissen,A., Kardos,P., Kroegel,C., Leupold,W., Lindemann,H., Magnussen,H., Nowak,D., Pfeiffer-Kascha,D., Rabe,K., Rolke,M., Schultze-Werninghaus,G., Sitter,H., Ukena,D., Vogelmeier,C., Welte,T., Wettengel,R., Worth,H., [Guidelines for diagnosis and treatment of asthma patients], *Pneumologie*, 60 (2006) 139-177.

Busse,W.W., What is the best pulmonary diagnostic approach for wheezing patients with normal spirometry?, *Respir Care*, 57 (2012) 39-46.

Calhoun,W.J., Ameredes,B.T., King,T.S., Icitovic,N., Bleecker,E.R., Castro,M., Cherniack,R.M., Chinchilli,V.M., Craig,T., Denlinger,L., DiMango,E.A., Engle,L.L., Fahy,J.V., Grant,J.A., Israel,E., Jarjour,N., Kazani,S.D., Kraft,M., Kunselman,S.J., Lazarus,S.C., Lemanske,R.F., Lugogo,N., Martin,R.J., Meyers,D.A., Moore,W.C., Pascual,R., Peters,S.P., Ramsdell,J., Sorkness,C.A., Sutherland,E.R., Szeffler,S.J., Wasserman,S.I., Walter,M.J., Wechsler,M.E., Boushey,H.A., Comparison of physician-, biomarker-, and symptom-based strategies for adjustment of inhaled corticosteroid therapy in adults with asthma: the BASALT randomized controlled trial, *JAMA*, 308 (2012) 987-997.

Cockcroft,D.W., Direct challenge tests: Airway hyperresponsiveness in asthma: its measurement and clinical significance, *Chest*, 138 (2010) 18S-24S.

Condorelli,P., Shin,H.W., Aledia,A.S., Silkoff,P.E., George,S.C., A simple technique to characterize proximal and peripheral nitric oxide exchange using constant flow exhalations and an axial diffusion model, *J Appl Physiol*, 102 (2007) 417-425.

Cowan,D.C., Cowan,J.O., Palmay,R., Williamson,A., Taylor,D.R., Effects of steroid therapy on inflammatory cell subtypes in asthma, *Thorax*, 65 (2010) 384-390.

Cox,G., Glucocorticoid treatment inhibits apoptosis in human neutrophils. Separation of survival and activation outcomes, *J Immunol*, 154 (1995) 4719-4725.

Crapo,R.O., Casaburi,R., Coates,A.L., Enright,P.L., Hankinson,J.L., Irvin,C.G., MacIntyre,N.R., McKay,R.T., Wanger,J.S., Anderson,S.D., Cockcroft,D.W., Fish,J.E., Sterk,P.J., Guidelines for methacholine and exercise challenge testing-1999. This official statement of the American Thoracic Society was adopted by the ATS Board of Directors, July 1999, *Am J Respir Crit Care Med*, 161 (2000) 309-329.

Deykin,A., Halpern,O., Massaro,A.F., Drazen,J.M., Israel,E., Expired nitric oxide after bronchoprovocation and repeated spirometry in patients with asthma, *Am J Respir Crit Care Med*, 157 (1998) 769-775.

Deykin,A., Massaro,A.F., Coulston,E., Drazen,J.M., Israel,E., Exhaled nitric oxide following repeated spirometry or repeated plethysmography in healthy individuals, *Am J Respir Crit Care Med*, 161 (2000) 1237-1240.

Deykin,A., Massaro,A.F., Drazen,J.M., Israel,E., Exhaled nitric oxide as a diagnostic test for asthma: online versus offline techniques and effect of flow rate, *Am J Respir Crit Care Med*, 165 (2002) 1597-1601.

Douwes,J., Gibson,P., Pekkanen,J., Pearce,N., Non-eosinophilic asthma: importance and possible mechanisms, *Thorax*, 57 (2002) 643-648.

Dressel,H., de la Motte,D., Reichert,J., Ochmann,U., Petru,R., Angerer,P., Holz,O., Nowak,D., Jorres,R.A., Exhaled nitric oxide: independent effects of atopy, smoking, respiratory tract infection, gender and height, *Respir Med*, 102 (2008) 962-969.

Dupont,L.J., Demedts,M.G., Verleden,G.M., Prospective evaluation of the validity of exhaled nitric oxide for the diagnosis of asthma, *Chest*, 123 (2003) 751-756.

Dweik,R.A., Boggs,P.B., Erzurum,S.C., Irvin,C.G., Leigh,M.W., Lundberg,J.O., Olin,A.C., Plummer,A.L., Taylor,D.R., An official ATS clinical practice guideline: interpretation of exhaled nitric oxide levels (FENO) for clinical applications, *Am J Respir Crit Care Med*, 184 (2011) 602-615.

Dweik,R.A., Sorkness,R.L., Wenzel,S., Hammel,J., Curran-Everett,D., Comhair,S.A., Bleeker,E., Busse,W., Calhoun,W.J., Castro,M., Chung,K.F., Israel,E., Jarjour,N., Moore,W., Peters,S., Teague,G., Gaston,B., Erzurum,S.C., Use of exhaled nitric oxide measurement to identify a reactive, at-risk phenotype among patients with asthma, *Am J Respir Crit Care Med*, 181 (2010) 1033-1041.

Fahy,J.V., Eosinophilic and neutrophilic inflammation in asthma: insights from clinical studies, *Proc Am Thorac Soc*, 6 (2009) 256-259.

- Faul,J.L., Demers,E.A., Burke,C.M., Poulter,L.W., The reproducibility of repeat measures of airway inflammation in stable atopic asthma, *Am J Respir Crit Care Med*, 160 (1999) 1457-1461.
- Folkerts,G., Kloek,J., Muijsers,R.B., Nijkamp,F.P., Reactive nitrogen and oxygen species in airway inflammation, *Eur J Pharmacol*, 429 (2001) 251-262.
- Fortuna,A.M., Feixas,T., Gonzalez,M., Casan,P., Diagnostic utility of inflammatory biomarkers in asthma: exhaled nitric oxide and induced sputum eosinophil count, *Respir Med*, 101 (2007) 2416-2421.
- Fujimoto,K., Kubo,K., Yamamoto,H., Yamaguchi,S., Matsuzawa,Y., Eosinophilic inflammation in the airway is related to glucocorticoid reversibility in patients with pulmonary emphysema, *Chest*, 115 (1999) 697-702.
- Gibson,P.G., Simpson,J.L., Saltos,N., Heterogeneity of airway inflammation in persistent asthma : evidence of neutrophilic inflammation and increased sputum interleukin-8, *Chest*, 119 (2001) 1329-1336.
- Gill,M., Graff,G.R., Adler,A.J., Dweik,R.A., Validation study of fractional exhaled nitric oxide measurements using a handheld monitoring device, *J Asthma*, 43 (2006) 731-734.
- Grainge,C.L., Lau,L.C., Ward,J.A., Dulay,V., Lahiff,G., Wilson,S., Holgate,S., Davies,D.E., Howarth,P.H., Effect of bronchoconstriction on airway remodeling in asthma, *N Engl J Med*, 364 (2011) 2006-2015.
- Green,R.H., Brightling,C.E., Woltmann,G., Parker,D., Wardlaw,A.J., Pavord,I.D., Analysis of induced sputum in adults with asthma: identification of subgroup with isolated sputum neutrophilia and poor response to inhaled corticosteroids, *Thorax*, 57 (2002) 875-879.
- Grouven,U., Bender,R., Ziegler,A., Lange,S., [Comparing methods of measurement], *Dtsch Med Wochenschr*, 132 Suppl 1 (2007) e69-e73.
- Gustafsson,L.E., Leone,A.M., Persson,M.G., Wiklund,N.P., Moncada,S., Endogenous nitric oxide is present in the exhaled air of rabbits, guinea pigs and humans, *Biochem Biophys Res Commun*, 181 (1991) 852-857.
- Hamid,Q., Springall,D.R., Riveros-Moreno,V., Chanez,P., Howarth,P., Redington,A., Bousquet,J., Godard,P., Holgate,S., Polak,J.M., Induction of nitric oxide synthase in asthma, *Lancet*, 342 (1993) 1510-1513.
- Hardin,M., Silverman,E.K., Barr,R.G., Hansel,N.N., Schroeder,J.D., Make,B.J., Crapo,J.D., Hersh,C.P., The clinical features of the overlap between COPD and asthma, *Respir Res*, 12 (2011) 127.
- Hastie,A.T., Moore,W.C., Meyers,D.A., Vestal,P.L., Li,H., Peters,S.P., Bleecker,E.R., Analyses of asthma severity phenotypes and inflammatory proteins in subjects stratified by sputum granulocytes, *J Allergy Clin Immunol*, 125 (2010) 1028-1036.

- Hemmingsson,T., Linnarsson,D., Gambert,R., Novel hand-held device for exhaled nitric oxide-analysis in research and clinical applications, *J Clin Monit Comput*, 18 (2004) 379-387.
- Hoffmann,F., Prevalence of asthma among German adults: analysis of the German National Telephone Survey, *J Asthma*, 44 (2007) 433-436.
- Holgate,S.T., Epithelium dysfunction in asthma, *J Allergy Clin Immunol*, 120 (2007) 1233-1244.
- Holz,O., Seiler,T., Karmeier,A., Fraedrich,J., Leiner,H., Magnussen,H., Jorres,R.A., Welker,L., Assessing airway inflammation in clinical practice - experience with spontaneous sputum analysis, *BMC Pulm Med*, 8 (2008) 5.
- Hunter,C.J., Brightling,C.E., Woltmann,G., Wardlaw,A.J., Pavord,I.D., A comparison of the validity of different diagnostic tests in adults with asthma, *Chest*, 121 (2002) 1051-1057.
- James,A., Ryan,G., Testing airway responsiveness using inhaled methacholine or histamine, *Respirology*, 2 (1997) 97-105.
- Jarvis,D., Newson,R., Lotvall,J., Hastan,D., Tomassen,P., Keil,T., Gjomarkaj,M., Forsberg,B., Gunnbjornsdottir,M., Minov,J., Brozek,G., Dahlen,S.E., Toskala,E., Kowalski,M.L., Olze,H., Howarth,P., Kramer,U., Baelum,J., Loureiro,C., Kasper,L., Bousquet,P.J., Bousquet,J., Bachert,C., Fokkens,W., Burney,P., Asthma in adults and its association with chronic rhinosinusitis: the GA2LEN survey in Europe, *Allergy*, 67 (2012) 91-98.
- Jatakanon,A., Lim,S., Kharitonov,S.A., Chung,K.F., Barnes,P.J., Correlation between exhaled nitric oxide, sputum eosinophils, and methacholine responsiveness in patients with mild asthma, *Thorax*, 53 (1998) 91-95.
- Jorres,R.A., Modelling the production of nitric oxide within the human airways, *Eur Respir J*, 16 (2000) 555-560.
- Kapande,K.M., McConaghy,L.A., Douglas,I., McKenna,S., Hughes,J.L., McCance,D.R., Ennis,M., Shields,M.D., Comparative repeatability of two handheld fractional exhaled nitric oxide monitors, *Pediatr Pulmonol*, 47 (2012) 546-550.
- Karrasch,S., Ernst,K., Behr,J., Heinrich,J., Huber,R.M., Nowak,D., Wichmann,H.E., Baumeister,S.E., Meisinger,C., Ladwig,K.H., Holle,R., Jorres,R.A., Schulz,H., Exhaled nitric oxide and influencing factors in a random population sample, *Respir Med*, 105 (2011) 713-718.
- Khalili,B., Boggs,P.B., Bahna,S.L., Reliability of a new hand-held device for the measurement of exhaled nitric oxide, *Allergy*, 62 (2007) 1171-1174.
- Kharitonov,S.A., Barnes,P.J., Nasal contribution to exhaled nitric oxide during exhalation against resistance or during breath holding, *Thorax*, 52 (1997) 540-544.

- Kharitonov,S.A., Gonio,F., Kelly,C., Meah,S., Barnes,P.J., Reproducibility of exhaled nitric oxide measurements in healthy and asthmatic adults and children, *Eur Respir J*, 21 (2003) 433-438.
- Kharitonov,S.A., Yates,D., Robbins,R.A., Logan-Sinclair,R., Shinebourne,E.A., Barnes,P.J., Increased nitric oxide in exhaled air of asthmatic patients, *Lancet*, 343 (1994) 133-135.
- Korn,S., Telke,I., Kornmann,O., Buhl,R., Measurement of exhaled nitric oxide: comparison of different analysers, *Respirology*, 15 (2010) 1203-1208.
- Kostikas,K., Papaioannou,A.I., Tanou,K., Koutsokera,A., Papala,M., Gourgoulisanis,K.I., Portable exhaled nitric oxide as a screening tool for asthma in young adults during pollen season, *Chest*, 133 (2008) 906-913.
- Kovesi,T., Kulka,R., Dales,R., Exhaled nitric oxide concentration is affected by age, height, and race in healthy 9- to 12-year-old children, *Chest*, 133 (2008) 169-175.
- Lane,C., Knight,D., Burgess,S., Franklin,P., Horak,F., Legg,J., Moeller,A., Stick,S., Epithelial inducible nitric oxide synthase activity is the major determinant of nitric oxide concentration in exhaled breath, *Thorax*, 59 (2004) 757-760.
- Linden,A., Measuring diagnostic and predictive accuracy in disease management: an introduction to receiver operating characteristic (ROC) analysis, *J Eval Clin Pract*, 12 (2006) 132-139.
- Little,S.A., Chalmers,G.W., MacLeod,K.J., McSharry,C., Thomson,N.C., Non-invasive markers of airway inflammation as predictors of oral steroid responsiveness in asthma, *Thorax*, 55 (2000) 232-234.
- Malinovschi,A., Janson,C., Holmkvist,T., Norback,D., Merilainen,P., Hogman,M., Effect of smoking on exhaled nitric oxide and flow-independent nitric oxide exchange parameters, *Eur Respir J*, 28 (2006) 339-345.
- Malmberg,L.P., Pelkonen,A.S., Haahtela,T., Turpeinen,M., Exhaled nitric oxide rather than lung function distinguishes preschool children with probable asthma, *Thorax*, 58 (2003) 494-499.
- Marketos,S.G., Ballas,C.N., Bronchial asthma in the medical literature of Greek antiquity, *J Asthma*, 19 (1982) 263-269.
- Masoli,M., Fabian,D., Holt,S., Beasley,R., The global burden of asthma: executive summary of the GINA Dissemination Committee report, *Allergy*, 59 (2004) 469-478.
- Mattes,J., Storm van's,G.K., Reining,U., Alving,K., Ihorst,G., Henschen,M., Kuehr,J., NO in exhaled air is correlated with markers of eosinophilic airway inflammation in corticosteroid-dependent childhood asthma, *Eur Respir J*, 13 (1999) 1391-1395.
- McGill,C., Malik,G., Turner,S.W., Validation of a hand-held exhaled nitric oxide analyzer for use in children, *Pediatr Pulmonol*, 41 (2006) 1053-1057.

- Menzies,D., Nair,A., Lipworth,B.J., Portable exhaled nitric oxide measurement: Comparison with the "gold standard" technique, *Chest*, 131 (2007) 410-414.
- Merget,R., Jorres,R.A., Heinze,E., Haufs,M.G., Taeger,D., Bruning,T., Development of a 1-concentration-4-step dosimeter protocol for methacholine testing, *Respir Med*, 103 (2009) 607-613.
- Miller,M.R., Hankinson,J., Brusasco,V., Burgos,F., Casaburi,R., Coates,A., Crapo,R., Enright,P., van der Grinten,C.P., Gustafsson,P., Jensen,R., Johnson,D.C., MacIntyre,N., McKay,R., Navajas,D., Pedersen,O.F., Pellegrino,R., Viegi,G., Wanger,J., Standardisation of spirometry, *Eur Respir J*, 26 (2005) 319-338.
- Monteseirin,J., Neutrophils and asthma, *J Investig Allergol Clin Immunol*, 19 (2009) 340-354.
- Moore,W.C., Meyers,D.A., Wenzel,S.E., Teague,W.G., Li,H., Li,X., D'Agostino,R., Jr., Castro,M., Curran-Everett,D., Fitzpatrick,A.M., Gaston,B., Jarjour,N.N., Sorkness,R., Calhoun,W.J., Chung,K.F., Comhair,S.A., Dweik,R.A., Israel,E., Peters,S.P., Busse,W.W., Erzurum,S.C., Bleecker,E.R., Identification of asthma phenotypes using cluster analysis in the Severe Asthma Research Program, *Am J Respir Crit Care Med*, 181 (2010) 315-323.
- Myers,T.R., Tomasio,L., Asthma: 2015 and beyond, *Respir Care*, 56 (2011) 1389-1407.
- National Asthma Education and Prevention Program., Expert Panel Report 3 (EPR-3): Guidelines for the Diagnosis and Management of Asthma-Summary Report 2007, *J. Allergy Clin Immunol*, 120 (2007) S94-138.
- Nguyen,L.T., Lim,S., Oates,T., Chung,K.F., Increase in airway neutrophils after oral but not inhaled corticosteroid therapy in mild asthma, *Respir Med*, 99 (2005) 200-207.
- Olin,A.C., Bake,B., Toren,K., Fraction of exhaled nitric oxide at 50 mL/s: reference values for adult lifelong never-smokers, *Chest*, 131 (2007) 1852-1856.
- Olin,A.C., Rosengren,A., Thelle,D.S., Lissner,L., Bake,B., Toren,K., Height, age, and atopy are associated with fraction of exhaled nitric oxide in a large adult general population sample, *Chest*, 130 (2006) 1319-1325.
- Olivieri,M., Talamini,G., Corradi,M., Perbellini,L., Mutti,A., Tantucci,C., Malerba,M., Reference values for exhaled nitric oxide (reveno) study, *Respir Res*, 7 (2006) 94.
- Osborne,M.L., Pedula,K.L., O'Hollaren,M., Ettinger,K.M., Stibolt,T., Buist,A.S., Vollmer,W.M., Assessing future need for acute care in adult asthmatics: the Profile of Asthma Risk Study: a prospective health maintenance organization-based study, *Chest*, 132 (2007) 1151-1161.
- Payne,D.N., Adcock,I.M., Wilson,N.M., Oates,T., Scallan,M., Bush,A., Relationship between exhaled nitric oxide and mucosal eosinophilic inflammation

- in children with difficult asthma, after treatment with oral prednisolone, *Am J Respir Crit Care Med*, 164 (2001) 1376-1381.
- Perpina,M., Pellicer,C., de,D.A., Compte,L., Macian,V., Diagnostic value of the bronchial provocation test with methacholine in asthma. A Bayesian analysis approach, *Chest*, 104 (1993) 149-154.
- Persson,M.G., Zetterstrom,O., Agrenius,V., Ihre,E., Gustafsson,L.E., Single-breath nitric oxide measurements in asthmatic patients and smokers, *Lancet*, 343 (1994) 146-147.
- Petsky,H.L., Cates,C.J., Lasserson,T.J., Li,A.M., Turner,C., Kynaston,J.A., Chang,A.B., A systematic review and meta-analysis: tailoring asthma treatment on eosinophilic markers (exhaled nitric oxide or sputum eosinophils), *Thorax*, 67 (2012) 199-208.
- Pijnenburg,M.W., Bakker,E.M., Hop,W.C., de Jongste,J.C., Titrating steroids on exhaled nitric oxide in children with asthma: a randomized controlled trial, *Am J Respir Crit Care Med*, 172 (2005) 831-836.
- Pizzichini,M.M., Popov,T.A., Efthimiadis,A., Hussack,P., Evans,S., Pizzichini,E., Dolovich,J., Hargreave,F.E., Spontaneous and induced sputum to measure indices of airway inflammation in asthma, *Am J Respir Crit Care Med*, 154 (1996) 866-869.
- Pizzimenti,S., Bugiani,M., Piccioni,P., Heffler,E., Carosso,A., Guida,G., Rolla,G., Exhaled nitric oxide measurements: correction equation to compare hand-held device to stationary analyzer, *Respir Med*, 102 (2008) 1272-1275.
- Porsbjerg,C., Lund,T.K., Pedersen,L., Backer,V., Inflammatory subtypes in asthma are related to airway hyperresponsiveness to mannitol and exhaled NO, *J Asthma*, 46 (2009) 606-612.
- Powell,H., Murphy,V.E., Taylor,D.R., Hensley,M.J., McCaffery,K., Giles,W., Clifton,V.L., Gibson,P.G., Management of asthma in pregnancy guided by measurement of fraction of exhaled nitric oxide: a double-blind, randomised controlled trial, *Lancet*, 378 (2011) 983-990.
- Quadrelli,S.A., Roncoroni,A.J., Montiel,G.C., Evaluation of bronchodilator response in patients with airway obstruction, *Respir Med*, 93 (1999) 630-636.
- Ricciardolo,F.L., Sterk,P.J., Gaston,B., Folkerts,G., Nitric oxide in health and disease of the respiratory system, *Physiol Rev*, 84 (2004) 731-765.
- Sackett,D.L., Haynes,R.B., The architecture of diagnostic research, *BMJ*, 324 (2002) 539-541.
- Sleich,F.N., Asandei,R., Manise,M., Sele,J., Seidel,L., Louis,R., Is FENO50 useful diagnostic tool in suspected asthma?, *Int J Clin Pract*, 66 (2012) 158-165.
- Sleich,F.N., Seidel,L., Sele,J., Manise,M., Quaedvlieg,V., Michils,A., Louis,R., Exhaled nitric oxide thresholds associated with a sputum eosinophil count $\geq 3\%$ in a cohort of unselected patients with asthma, *Thorax*, 65 (2010) 1039-1044.

- Schneider,A., Ay,M., Faderl,B., Linde,K., Wagenpfeil,S., Diagnostic accuracy of clinical symptoms in obstructive airway diseases varied within different health care sectors, *J Clin Epidemiol*, 65 (2012) 846-854.
- Schneider,A., Gindner,L., Tilemann,L., Schermer,T., Dinant,G.J., Meyer,F.J., Szecsenyi,J., Diagnostic accuracy of spirometry in primary care, *BMC Pulm Med*, 9 (2009) 31.
- Schneider,A., Schwarzbach,J., Faderl,B., Welker,L., Karsch-Volk,M., Jorres,R.A., FENO measurement and sputum analysis for diagnosing asthma in clinical practice, *Respir Med*, 107 (2013) 209-216.
- Schneider,A., Tilemann,L., Schermer,T., Gindner,L., Laux,G., Szecsenyi,J., Meyer,F.J., Diagnosing asthma in general practice with portable exhaled nitric oxide measurement--results of a prospective diagnostic study: FENO \leq 16 ppb better than FENO \leq 12 ppb to rule out mild and moderate to severe asthma [added], *Respir Res*, 10 (2009) 15.
- Schulze,J., Rosewich,M., Riemer,C., Dressler,M., Rose,M.A., Zielen,S., Methacholine challenge--comparison of an ATS protocol to a new rapid single concentration technique, *Respir Med*, 103 (2009) 1898-1903.
- Selby,A., Clayton,B., Grundy,J., Pike,K., Drew,K., Raza,A., Kurukulaaratchy,R., Arshad,S.H., Roberts,G., Are exhaled nitric oxide measurements using the portable NIOX MINO repeatable?, *Respir Res*, 11 (2010) 43.
- Shaw,D.E., Berry,M.A., Hargadon,B., McKenna,S., Shelley,M.J., Green,R.H., Brightling,C.E., Wardlaw,A.J., Pavord,I.D., Association between neutrophilic airway inflammation and airflow limitation in adults with asthma, *Chest*, 132 (2007) 1871-1875.
- Shrout,P.E., Fleiss,J.L., Intraclass correlations: uses in assessing rater reliability, *Psychol Bull*, 86 (1979) 420-428.
- Silkoff,P.E., Sylvester,J.T., Zamel,N., Permutt,S., Airway nitric oxide diffusion in asthma: Role in pulmonary function and bronchial responsiveness, *Am J Respir Crit Care Med*, 161 (2000) 1218-1228.
- Simel,D.L., Samsa,G.P., Matchar,D.B., Likelihood ratios with confidence: sample size estimation for diagnostic test studies, *J Clin Epidemiol*, 44 (1991) 763-770.
- Simpson,J.L., Scott,R., Boyle,M.J., Gibson,P.G., Inflammatory subtypes in asthma: assessment and identification using induced sputum, *Respirology*, 11 (2006) 54-61.
- Smith,A.D., Cowan,J.O., Brassett,K.P., Filsell,S., McLachlan,C., Monti-Sheehan,G., Peter,H.G., Robin,T.D., Exhaled nitric oxide: a predictor of steroid response, *Am J Respir Crit Care Med*, 172 (2005) 453-459.
- Smith,A.D., Cowan,J.O., Brassett,K.P., Herbison,G.P., Taylor,D.R., Use of exhaled nitric oxide measurements to guide treatment in chronic asthma, *N Engl J Med*, 352 (2005) 2163-2173.

- Smith,A.D., Cowan,J.O., Filsell,S., McLachlan,C., Monti-Sheehan,G., Jackson,P., Taylor,D.R., Diagnosing asthma: comparisons between exhaled nitric oxide measurements and conventional tests, *Am J Respir Crit Care Med*, 169 (2004) 473-478.
- Stock,S., Redaelli,M., Luengen,M., Wendland,G., Civello,D., Lauterbach,K.W., Asthma: prevalence and cost of illness, *Eur Respir J*, 25 (2005) 47-53.
- Strunk,R.C., Szeffler,S.J., Phillips,B.R., Zeiger,R.S., Chinchilli,V.M., Larsen,G., Hodgdon,K., Morgan,W., Sorkness,C.A., Lemanske,R.F., Jr., Relationship of exhaled nitric oxide to clinical and inflammatory markers of persistent asthma in children, *J Allergy Clin Immunol*, 112 (2003) 883-892.
- Szeffler,S.J., Mitchell,H., Sorkness,C.A., Gergen,P.J., O'Connor,G.T., Morgan,W.J., Kattan,M., Pongracic,J.A., Teach,S.J., Bloomberg,G.R., Eggleston,P.A., Gruchalla,R.S., Kerckmar,C.M., Liu,A.H., Wildfire,J.J., Curry,M.D., Busse,W.W., Management of asthma based on exhaled nitric oxide in addition to guideline-based treatment for inner-city adolescents and young adults: a randomised controlled trial, *Lancet*, 372 (2008) 1065-1072.
- Tattersfield,A.E., Knox,A.J., Britton,J.R., Hall,I.P., Asthma, *Lancet*, 360 (2002) 1313-1322.
- Taylor,D.R., Mandhane,P., Greene,J.M., Hancox,R.J., Filsell,S., McLachlan,C.R., Williamson,A.J., Cowan,J.O., Smith,A.D., Sears,M.R., Factors affecting exhaled nitric oxide measurements: the effect of sex, *Respir Res*, 8 (2007) 82.
- Taylor,D.R., Palmay,R., Cowan,J.O., Herbison,G.P., Long term performance characteristics of an electrochemical nitric oxide analyser, *Respir Med*, 105 (2011) 211-217.
- Taylor,D.R., Pijnenburg,M.W., Smith,A.D., de Jongste,J.C., Exhaled nitric oxide measurements: clinical application and interpretation, *Thorax*, 61 (2006) 817-827.
- Taylor,E.S., Smith,A.D., Cowan,J.O., Herbison,G.P., Taylor,D.R., Effect of caffeine ingestion on exhaled nitric oxide measurements in patients with asthma, *Am J Respir Crit Care Med*, 169 (2004) 1019-1021.
- To,T., Stanojevic,S., Moores,G., Gershon,A.S., Bateman,E.D., Cruz,A.A., Boulet,L.P., Global asthma prevalence in adults: findings from the cross-sectional world health survey, *BMC Public Health*, 12 (2012) 204.
- Travers,J., Marsh,S., Aldington,S., Williams,M., Shirtcliffe,P., Pritchard,A., Weatherall,M., Beasley,R., Reference ranges for exhaled nitric oxide derived from a random community survey of adults, *Am J Respir Crit Care Med*, 176 (2007) 238-242.
- Wadsworth,S., Sin,D., Dorscheid,D., Clinical update on the use of biomarkers of airway inflammation in the management of asthma, *J Asthma Allergy*, 4 (2011) 77-86.

Warke,T.J., Fitch,P.S., Brown,V., Taylor,R., Lyons,J.D., Ennis,M., Shields,M.D., Exhaled nitric oxide correlates with airway eosinophils in childhood asthma, *Thorax*, 57 (2002) 383-387.

Wenzel,S.E., Asthma phenotypes: the evolution from clinical to molecular approaches, *Nat Med*, 18 (2012) 716-725.

Wenzel,S.E., Schwartz,L.B., Langmack,E.L., Halliday,J.L., Trudeau,J.B., Gibbs,R.L., Chu,H.W., Evidence that severe asthma can be divided pathologically into two inflammatory subtypes with distinct physiologic and clinical characteristics, *Am J Respir Crit Care Med*, 160 (1999) 1001-1008.

Wenzel,S.E., Szeffler,S.J., Leung,D.Y., Sloan,S.I., Rex,M.D., Martin,R.J., Bronchoscopic evaluation of severe asthma. Persistent inflammation associated with high dose glucocorticoids, *Am J Respir Crit Care Med*, 156 (1997) 737-743.

Wewel,A.R., Crusius,J.A., Gatzemeier,U., Heckmayr,M., Becher,G., Magnussen,H., Jorres,R.A., Holz,O., Time course of exhaled hydrogen peroxide and nitric oxide during chemotherapy, *Eur Respir J*, 27 (2006) 1033-1039.

Xia,Y., Roman,L.J., Masters,B.S., Zweier,J.L., Inducible nitric-oxide synthase generates superoxide from the reductase domain, *J Biol Chem*, 273 (1998) 22635-22639.

YOU DEN,W.J., Index for rating diagnostic tests, *Cancer*, 3 (1950) 32-35.

Zietkowski,Z., Bodzenta-Lukaszyk,A., Tomasiak,M.M., Skiepkowski,R., Szmitkowski,M., Comparison of exhaled nitric oxide measurement with conventional tests in steroid-naive asthma patients, *J Investig Allergol Clin Immunol*, 16 (2006) 239-246.

7. Tabellarischer Anhang

Liebe Patientin, lieber Patient: Wir haben eine kleine Bitte, die uns die Beurteilung Ihrer Befunde erleichtern soll: Bitte füllen Sie den folgenden Fragebogen aus!

Name: _____, Vorname: _____, Geburtsdatum: _____

Hausarzt: Dr. _____

1. Haben Sie in den letzten 12 Monaten ein pfeifendes Atemgeräusch bei sich wahrgenommen?	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein
1.1. Hatten Sie jemals Luftnot, als dieses pfeifende Atemgeräusch auftrat?	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein
1.2. Hatten Sie dieses pfeifende Atemgeräusch auch, wenn Sie keine Erkältung hatten?	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein
2. Leiden Sie unter anfallsartiger Luftnot oder nur unter Luftnot bei Anstrengung?	
<input type="checkbox"/> weder noch <input type="checkbox"/> Anfallsartig <input type="checkbox"/> Bei Anstrengung	
3. Haben Sie Atemnot	
3.1. bei stärkerer Anstrengung, z.B. beim Treppensteigen über mehr als 2 Stockwerke?	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein
3.2. bei leichter Anstrengung, z.B. beim normalen Gehen auf ebener Erde?	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein
3.3. schon in Ruhe oder bei ganz leichter Anstrengung, z.B. beim Anziehen?	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein
4. Sind Sie in den letzten 12 Monaten nachts aufgewacht mit einem Engegefühl im Brustbereich?	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein
5. Sind Sie in den letzten 12 Monaten wegen anfallsartiger Luftnot nachts aufgewacht?	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein
6. Sind Sie in den letzten 12 Monaten wegen Hustenattacken nachts aufgewacht?	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein
7. Hatten Sie in den letzten 12 Monaten einen Asthma-Anfall?	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein
8. Nehmen Sie zur Zeit Medikamente gegen Asthma ein (inclusive Sprays)?	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein
9. Tritt bei Ihnen gehäuft ein allergischer Schnupfen (z.B. Heuschnupfen) auf?	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein
10. Treten bei Ihnen gehäuft ein Atemwegsinfekt auf?	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein
11. Rauchen Sie?	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein
Wenn ja: wie viele Zigaretten/Zigarillos/Zigarren/Pfeifen tgl.? _____ seit wann? _____	
12. Haben Sie früher geraucht?	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein
Wenn ja: wie viele Zigaretten/Zigarillos/Zigarren/Pfeifen tgl.? _____ (bitte zutreffendes unterstreichen)	
bis wann haben Sie geraucht? _____ wieviele Jahre haben Sie geraucht? _____	
13. Haben Sie häufig Husten?	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein
14. Leiden Sie mehr als 3 Monate pro Jahr unter Husten?	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein
15. Haben Sie häufig Auswurf?	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein
15.1. Müssen Sie vor allem morgens als erstes Schleim abhusten?	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein
15.2. Leiden Sie mehr als 3 Monate pro Jahr unter Auswurf?	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein
16. Sind bei Ihnen noch andere Erkrankungen bekannt?	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein

Wenn ja: Welche? _____

17. Nehmen Sie Medikamente ein?

ja nein

Wenn ja: Welche? _____

Herzlichen Dank!

8. Danksagung

Mein Dank gilt allen Personen, die mit ihrer Unterstützung zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Herr Prof. Dr. med. Antonius Schneider hat mir die Möglichkeit eröffnet, das Thema zu bearbeiten und an der gesamten Studie aktiv mitzuwirken. Er hat mich während der ganzen Zeit in hervorragender Weise betreut und hat mir die Faszination der allgemeinmedizinischen Forschung nähergebracht. Ihm gilt mein besonderer Dank.

Ich danke Herrn PD Dr. rer. nat. Rudolf A. Jörres für seine Beratung und Hilfsbereitschaft.

Herrn PD Dr. med. Lutz Welker danke ich für seine Hilfe und spannende Einblicke in die Zytologie.

Dem gesamten Team der pneumologischen Praxis Dres. Hellmann, Faderl und Kollegen in Augsburg danke ich für die gute Zusammenarbeit und die Unterstützung bei der Durchführung der Studie.

Meinen Eltern und Freunden bin ich für ihre Hilfe und ihren Rückhalt sehr dankbar.