

Diplomarbeit

**Änderungen des Redoxzustandes von humanem
Serumalbumin während normobarer Hypoxie**

eingereicht von

Johannes Holzinger

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der gesamten Heilkunde

(Dr. med. univ.)

an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt am/an der

Institut für Physiologische Chemie

Universitätsklinik für Innere Medizin - Pulmonologie

unter der Anleitung von

Ao. Univ.-Prof. Mag. Dr. rer. nat. Karl Öttl

Ao.Univ.-Prof. Dr.med.univ. Wolfgang Domej

Graz, am 23.11.2017

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Graz, am 23.11.2017

Johannes Holzinger eh

Danksagungen

Für die Unterstützung bei der Realisierung dieses Projektes möchte ich mich beim Institut für Physiologische Chemie und der Klinischen Abteilung für Pulmonologie bedanken. Insbesondere gilt mein Dank meinen Betreuern Professor Karl Öttl und Professor Wolfgang Domej, welche mich bei der Umsetzung dieses Projektes stets hervorragend unterstützt und beraten haben.

Ebenso möchte ich mich bei den Teams des Institutes für Physiologische Chemie und der Höhenkammer am Institut für Sportwissenschaften bedanken. Besonders bei Frau Doris Payerl, die mich sowohl bei der Durchführung der Versuche als auch bei der Arbeit im Labor tatkräftig angeleitet und unterstützt hat. Zudem gilt mein Dank auch Herrn Stefan Jury für den professionellen Betrieb der Höhenkammer. Ebenso danke ich Privatdozent Seth Hallström für die MDA-Messungen und Professor Gilbert Reibenegger für die Unterstützung bei den statistischen Analysen. Auch möchte ich mich beim Klinischen Institut für medizinische und chemische Labordiagnostik für die Durchführung der Blutuntersuchungen bedanken.

Ein besonderer Dank ergeht an meine Familie, die mich in allen Lebenslagen unterstützt hat und die mir mein Studium erst ermöglicht hat. Besonders möchte ich mich bei meinen Eltern Cornelia und Johann für ihre Unterstützung, für alle ihre guten Ratschläge und nicht zuletzt für die Liebe, die sie mir immer entgegen gebracht haben, bedanken.

Zum Schluss möchte ich mich herzlich bei allen meinen Freunden und Freundinnen bedanken, die mich im Laufe meines Studiums begleitet und unterstützt haben. Ein besonderer Dank ergeht an dieser Stelle an jene, die sich freiwillig bereit erklärt haben, sich als Probanden und Probandinnen für meine Diplomarbeit zur Verfügung zu stellen.

Zusammenfassung

Dass Hypoxie zum Auftreten von oxidativen Stress in biologischen Systemen führt, wurde bereits mehrfach gezeigt. Die Quellen der dabei auftretenden reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) sind vielfältig und noch nicht endgültig geklärt. Am Institut für Physiologische Chemie der Medizinischen Universität Graz wurden bereits zahlreiche Untersuchungen zur Auswirkung von oxidativem Stress auf den Redoxstatus von humanem Serumalbumin durchgeführt. Mit der Verfügbarkeit einer Hypoxiekammer am Institut für Sportwissenschaften in Graz, war es naheliegend, die Auswirkungen von akuter, normobarer Hypoxie auf die Verteilung der Redox-Fractionen von Albumin im Rahmen dieser Diplomarbeit zu untersuchen.

Für die Pilotstudie wurden 33 gesunde junge Probanden und Probandinnen für vier Stunden einer hypoxischen Atmosphäre (Äquivalenzhöhe 5.000 m) ausgesetzt. Vor und nach dem Versuch wurden die einzelnen Albuminfraktionen mittels HPLC bestimmt. Um etwaige Veränderung mit einem etablierten Marker für oxidativen Stress zu vergleichen, wurde der MDA-Spiegel vor und nach dem Versuch bestimmt.

Nach den Analysen konnten 21 Probanden und Probandinnen in die statistischen Auswertungen miteinbezogen werden. Die Hypoxie-Exposition führte zu einer Abnahme des Anteils der reduzierten Albuminform (HMA) um 1,6% und zugleich zu einer Zunahme des Anteils der mild oxidierten Albuminfraktion (HNA-1) um 1,4%. Diese Veränderungen sind statistisch signifikant. Die irreversibel oxidierte Albuminfraktion (HNA-2) blieb beinahe unverändert. Auch der MDA-Wert blieb unverändert. Zudem konnte ein deutlicher Anstieg des Leukozytenwertes selektiv bei den Männern beobachtet werden. Dieser Geschlechterunterschied ist statistisch signifikant.

Die Ergebnisse sollten im Rahmen von größer angelegten Studien überprüft werden. Dabei sollte auch die Phase der Reoxygenierung in die Auswertung miteinbezogen werden.

Abstract

It has been shown in various studies that hypoxia leads to the occurrence of oxidative stress in biological systems. There are multiple sources of the occurring reactive oxygen species (ROS), but they are not fully understood. Numerous studies have been conducted at the Institute of Physiological Chemistry of the Medical University Graz concerning the effect of oxidative stress on the redox status of human serum albumin. The availability of a hypoxia chamber at the Institute of Sports Science made it possible to investigate the effects of acute normobaric hypoxia on the distribution of the albumin redox fractions in the context of this diploma thesis.

In the pilot study, 33 healthy young male and female subjects were exposed for four hours to a hypoxic atmosphere (at the altitude equivalent of 5,000 m). The individual albumin fractions were measured with HPLC both before and after the test. The MDA level was determined before and after the test in order to compare changes through a recognized marker of oxidative stress.

After evaluating the results, it was possible to include 21 subjects in the statistical analysis. The hypoxia exposure led to a decrease of the proportion of reduced form of albumin (HMA) of 1.6%, while causing an increase of the proportion of mildly oxidized albumin fraction (HNA-1) of 1.4%. These changes are statistically significant. The irreversibly oxidized albumin fraction (HNA-2) remained essentially unchanged. The value of MDA also remained unchanged. In addition, a noticeable increase in leucocyte values was observed in male subjects. This sex difference is statistically significant.

The results should be tested in a larger study. Such an investigation should also include an evaluation of the reoxygenation phase.

Inhaltsverzeichnis

Danksagungen	3
Zusammenfassung	4
Abstract	5
Inhaltsverzeichnis	6
Abbildungsverzeichnis	8
Tabellenverzeichnis	10
Glossar und Abkürzungen	11
1. Thema	14
2. Grundlagen	14
2.1. Physiologie in großen Höhen	14
2.2. Oxidativer Stress	17
2.2.1. Mechanismen zur Entstehung von reaktiven Spezies	18
2.2.2. Oxidative Schäden und Veränderungen an Biomolekülen	19
Lipidperoxidation	20
Malondialdehyd (MDA)	21
Oxidative Schäden von Nukleinsäuren	23
Oxidative Schäden an Kohlenhydraten	23
Oxidative Schäden an Proteinen	24
2.3. Antioxidative Abwehrsysteme	26
2.3.1. Der Thiol-Pool im menschlichen Plasma	28
2.4. Oxidativer Stress in großen Höhen	31
2.5. Albumin	33
2.5.1. Die Redoxzustände des Albumins	34
3. Methoden	36
3.1. Beschreibung der Höhenkammer	36
3.2. Ablauf des Versuchs	37
3.3. Bestimmung der Albuminfraktionen	38

3.4. Bestimmung von Malondialdehyd	40
3.5. Bestimmung der klinisch-chemischen Laborwerte und des Blutbildes	42
4. Ergebnisse.....	43
4.1. Veränderungen der Albuminfraktionen.....	43
4.1.1. Änderungen des HMA	43
4.1.2. Änderungen des HNA-1	45
4.1.3. Änderungen des HNA-2	47
4.2. Veränderungen von MDA, Blutbild und Sauerstoffsättigung	48
4.2.1. Malondialdehyd	48
4.2.2. Pulsoxymetrische Sauerstoffsättigung.....	50
4.2.3. Leukozytenzahl.....	52
4.3. Zusätzliche Korrelationsanalysen.....	53
4.3.1. Auffällige Korrelationen	53
4.3.2. Unterschiede zwischen den Geschlechtern.....	56
5. Diskussion	59
5.1. Albumin als sensibler Marker für oxidative Belastungen	59
5.2. Überlegungen zu abweichenden Ergebnissen	60
5.3. Blutbildveränderungen	61
5.4. Probleme während der Durchführung	62
5.5. Limitationen.....	63
5.6. Neue Fragestellungen.....	64
6. Literaturverzeichnis.....	66
7. Anhang	71
7.1. Tabellen:	71
7.1.1. Rohdaten.....	72
7.1.2. Korrelationen von Blutbild, SpO ₂ -Werten, klinischer Chemie und Sport..	76
7.1.3. Korrelationen der Albuminänderungen mit ausgewählten Meßwerten	84
7.1.4. Erhebung von Geschlechterunterschieden.....	86
7.2. Dokumente:.....	91
7.2.1. Aufklärungsblatt.....	92
7.2.2. Einverständniserklärung	95
7.2.3. Anamnesefragebogen	96
7.2.4. Ethikkommissionsvotum	98

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Sauerstoffdissoziationskurve nach den Daten von Severinghaus 1979 (3). Der Sauerstoffhalbsättigungsdruck p_{50} ist 26,7 mmHg.	15
Abbildung 2: Die Lipidperoxidation, modifizierte Abbildung nach Ayala et al. (24). Das Lipidperoxyl-Radikal kann wiederum ungesättigte Fettsäuren oxidieren und trägt somit zur Propagation der Lipidperoxidation bei. Es kann jedoch auch der Malondialdehyd daraus entstehen, wie in Abbildung 3 dargestellt.	21
Abbildung 3: Entstehung von Malondialdehyd aus einem Lipidperoxyl-Radikal über die Bildung eines Endoperoxids (27)	22
Abbildung 4: Keto-Enol-Tautomerie des Malondialdehyd.	23
Abbildung 5: Methionin und Methioninsulfoxid als oxidierte Form. Die Oxidation kann durch das Enzym Methioninsulfoxid-Reduktase wieder umgekehrt werden.	24
Abbildung 6: Reduziertes Cystein und die irreversibel oxidierten Formen als Sulfin- und Sulfonsäure.	25
Abbildung 7: Beispiel eines antioxidativen Netzwerkes. Die Oxidation von Ascorbat bzw. die Reduktion des Tocopherol-Radikals erfolgen an der Oberfläche der Zellmembran und stellen somit den Übergang vom lipophilen in das hydrophile Milieu dar. Modifizierte Darstellung nach Bandyopadhyay et al. (19).	28
Abbildung 8: Oxidation von zwei Cystein-Molekülen (oben) zu einem Cystin-Molekül (unten).	29
Abbildung 9: Glutathion in reduzierter Form (oben) und zu Glutathion-Disulfid oxidiert (unten).	30
Abbildung 10: Homocystein	30
Abbildung 11: Humanes Serumalbumin. Das Cystein an Stelle 34 ist hervorgehoben. Diese Graphik wurde erstellt auf Basis der PDB-Datei 1BJ5 von Curry et al. (48)	34
Abbildung 12: Die unterschiedlichen Redox-Zustände des Albumins. Beim HMA liegt das Cystein an Stelle 34 mit einer Thiolgruppe (-SH) vor. Das	

HNA-1 ist hier als Disulfid mit einem weiteren Cystein-Molekül dargestellt und das HNA-2 liegt in dieser Abbildung als Sulfonsäure vor.....	35
Abbildung 13: Die Höhenkammer am Institut für Sportwissenschaften in Graz.....	36
Abbildung 14: Chromatogramme zur Bestimmung der Albumin-Redox-Zustände. Die Abbildung oben beschreibt die einzelnen Albumin-Fraktionen. Das Chromatogramm unten ist jenes des Probanden 15 aus der durchgeführten Studie mit den eingepassten Glockenkurven.....	40
Abbildung 15: Chromatogramme zur Bestimmung von MDA. Die Abbildung zeigt oben das Chromatogramm eines MDA-Standards und unten jenes einer Plasmaprobe.	42
Abbildung 16: Boxplot des HMA-Anteils vor und nach der Hypoxie-Exposition.....	44
Abbildung 17: Die Veränderungen des HMA-Anteils bei den einzelnen eingeschlossenen Probanden und Probandinnen. Der Mittelwert ist rot dargestellt.....	45
Abbildung 18: Boxplot des HNA-1-Anteils vor und nach der Hypoxie-Exposition.....	46
Abbildung 19: Boxplot des HNA-2-Anteils vor und nach der Hypoxie-Exposition.....	47
Abbildung 20: Boxplot des MDA-Wertes vor und nach Hypoxie-Exposition.	49
Abbildung 21: Vergleich der einzelnen Probanden und Probandinnen im Hinblick auf die Änderung des HMA-Anteils und die Änderung des MDA. Jene Versuchspersonen bei denen der HMA-Wert stieg sind rot dargestellt.....	49
Abbildung 22: Die absolute und relative Änderung der MDA-Konzentrationen bei den einzelnen Versuchspersonen während der Hypoxie. Die Mittelwerte sind in rot dargestellt.....	50
Abbildung 23: Verlauf der photometrischen Sauerstoffsättigung über den Zeitraum der Hypoxie-Exposition bei den einzelnen Probanden und Probandinnen. Der Mittelwert ist in rot dargestellt.	51
Abbildung 24: Änderungen der Mittelwerte der Leukozytenzahl während der Hypoxie-Exposition gesamt und nach Geschlecht.....	52
Abbildung 25: Übersicht über die Leukozytenwerte vor und nach der Hypoxie-Exposition gesamt und nach Geschlecht.....	53

Abbildung 26: Vergleich der SpO₂-Differenz nach 2 h zum Ausgangswert und der Änderung der Leukozyten während der Hypoxie-Exposition. Die leeren Kreise beschreiben die Werte von Männern, die gefüllten jene der Frauen. Für beide Geschlechter wurde je eine Regressionsgerade (Männer strichliert, Frauen durchgezogen) eingefügt.55

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Schema des Elutions-Gradienten für die Bestimmung des Albumin-Redoxzustandes mittels HPLC.....	39
Tabelle 2: Änderungen der HMA-Fraktion bei den einzelnen eingeschlossenen Probanden und Probandinnen.	44
Tabelle 3: Änderungen der HNA-1-Fraktion bei den einzelnen eingeschlossenen Probanden und Probandinnen.	46
Tabelle 4: Änderungen des MDA bei den einzelnen eingeschlossenen Probanden und Probandinnen.....	48
Tabelle 5: Auflistung der relevanten und signifikanten Korrelationen der Meßwerte.....	56
Tabelle 6: Die oben erwähnten Korrelationen, berechnet aus den Meßwerten der männlichen Versuchspersonen.	57
Tabelle 7: Die oben erwähnten Korrelationen, berechnet aus den Meßwerten der weiblichen Versuchspersonen.....	58

Glossar und Abkürzungen

ADP	Adenosin-Diphosphat
ALT	Alanin-Aminotransferase
AMP	Adenosin-Monophosphat
AST	Aspartat-Aminotransferase
ATP	Adenosin-Triphosphat
CRP	C-reaktives Protein
DNA	Desoxyribonukleinsäure (deoxyribonucleic acid)
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure (Ethylenediaminetetraacetic acid)
FiO ₂	inspiratorischer Sauerstoffanteil (fraction of inspired oxygen)
GE	Gesamteiweiß
GGT	Gamma-Gutamyltransferase
GPx	Glutathion-Peroxidase
GR	Glutathion-Reduktase
GSH	Glutathion
GSSG	Glutathiondisulfid
HIF- α	hypoxia inducible factor 1 - α
HMA	Humanes Mercaptalbumin
HNA-1	Humanes Non-Mercaptalbumin 1
HNA-2	Humanes Non-Mercaptalbumin 2
HPLC	Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie (high-performance liquid chromatography)
IL-1 β	Interleukin - 1 β
IL-6	Interleukin - 6
IL-8	Interleukin - 8
IL-10	Interleukin - 10
MAO	Monoaminoxidase
MCH	Mittleres korpuskuläres Hämoglobin (mean corpuscular hemoglobin)
MCHC	Mittlere korpuskuläre Hämoglobin-Konzentration (mean corpuscular hemoglobin-concentration)
MCV	Mittleres Erythrozytenvolumen (mean corpuscular volume)
MDA	Malondialdehyd

MPO	Myeloperoxidase
NADPH	Nicotinamidadenindinukleotidphosphat
NOX	NO-Oxidase
p50	Sauerstoffhalbsättigungsdruck
pCO ₂	Kohlenstoffdioxid-Partialdruck
PDB	Protein-Database
pO ₂	Sauerstoff-Partialdruck
RNS	Reaktive Stickstoffspezies (reactive nitrogen species)
ROS	Reaktive Sauerstoffspezies (reactive oxygen species)
SOD	Superoxid-Dismutase
SpO ₂	pulsoximetrisch gemessen Sauerstoffsättigung
TMP	1,1,3,3-Tetramethoxypropan
TNF- α	Tumor-Nekrose-Faktor - α
VO _{2max}	maximale Sauerstoffaufnahme

Einheiten

°C	Grad Celsius
Da	Dalton
dL	Deziliter
g	Gramm
G/L	Giga pro Liter (10 ⁹ /Liter)
h	Stunden
kg	Kilogramm
L	Liter
m	Meter
M	Mol pro Liter
mAU	Milli-absorbance unit
mbar	Millibar
mg	Milligramm
min	Minuten

mL	Milliliter
mm	Millimeter
mM	Millimol pro Liter
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
mVolt	Millivolt
nm	Nanometer
nmol	Nanomol
pg	Pikogramm
T/L	Tera pro Liter (10^{12} /Liter)
U/L	Units pro Liter
U/min	Umdrehungen pro Minute
v/v	Volumen pro Volumen
μ L	Mikroliter
μ m	Mikrometer

1. Thema

Höhenbergsteigen und Aktivitäten in großer Höhe erfreuen sich immer größerer Beliebtheit und der Fortschritt in der Technik macht den Aufenthalt in großen Höhen einer breiten Masse zugänglich. In den 40 Jahren von 1950 bis 1989 versuchten 12.853 Menschen die Gipfel Nepals über 6.000 Meter zu besteigen. In den 20 Jahren von 1990 bis 2009 waren es alleine 26.273 (1). Auch die Forschung beschäftigt sich zunehmend mit dem Thema der großen Höhe und ihrer Auswirkung auf den menschlichen Organismus.

Die vorliegende Diplomarbeit beschäftigt sich mit den Auswirkungen von großer Höhe auf die Redox-Situation im menschlichen Blut. Insbesondere die akute Exposition gegenüber Hypoxie und die reduktiven und oxidativen Veränderungen am Albumin wurden untersucht. Am Institut für Physiologische Chemie der Medizinischen Universität Graz wird bereits seit längerem zu dem Thema der oxidativen Veränderungen am menschlichen Albumin geforscht. Bisher gibt es allerdings keine publizierten Arbeiten zu den Auswirkungen von großen Höhen oder Hypoxie auf die Oxidation von Albumin.

2. Grundlagen

2.1. Physiologie in großen Höhen

Beim Aufenthalt in großen Höhen kommt es zu zahlreichen Änderungen im menschlichen Körper. Von großen Höhen spricht man bei Höhenlagen zwischen 3.000 und 5.500 Meter Seehöhe (2).

In großen Höhen sinken der Luftdruck und somit auch die Partialdrücke der einzelnen Gase der Atemluft. Entsprechend des verringerten Sauerstoffpartialdruckes und der Sauerstoffbindungskurve

(Sauerstoffdissoziationskurve, siehe Abbildung 1, erstellt nach Severinghaus 1979 (3)) sinkt auch die Sauerstoffsättigung des arteriellen Blutes, was von den peripheren Chemorezeptoren in den Glomera carotica und Glomera aortica registriert wird. Daraufhin werden der Atemantrieb, der auf Meeresebene und in geringen Höhen hauptsächlich durch das CO_2 -Level gesteuert wird, und der Sympathikus angeregt (4-6).

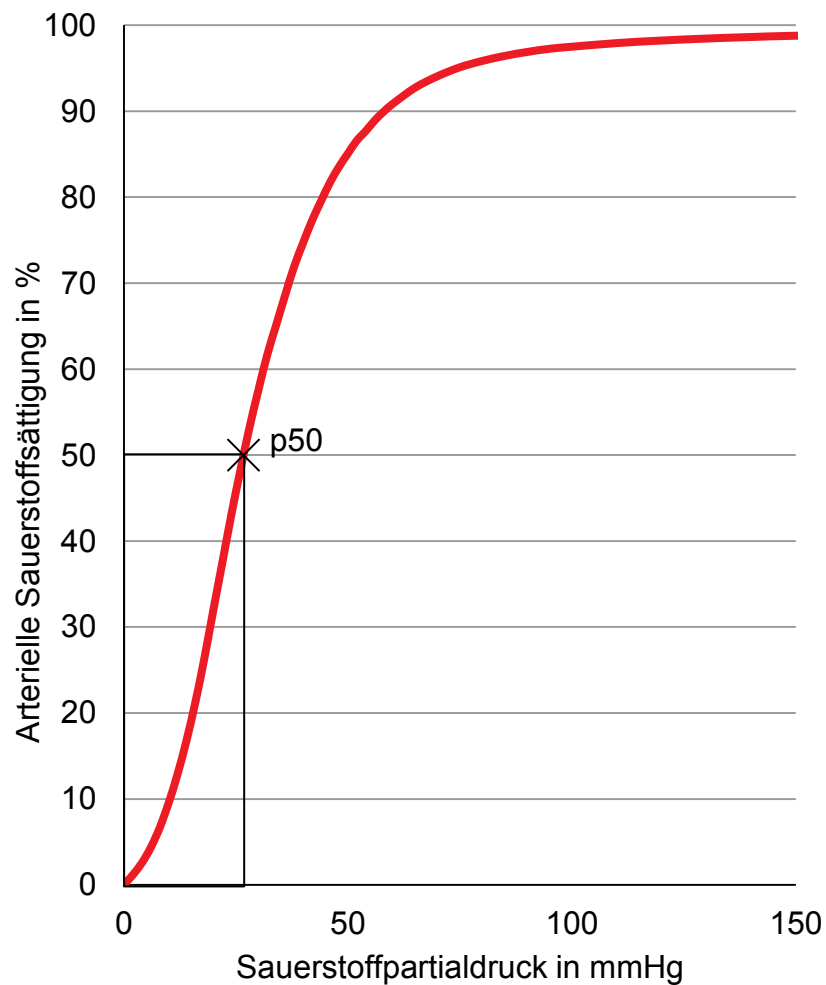


Abbildung 1: Sauerstoffdissoziationskurve nach den Daten von Severinghaus 1979 (3). Der Sauerstoffhalbsättigungsdruck p_{50} ist 26,7 mmHg.

Durch die erhöhte Atemfrequenz steigt der alveoläre $p\text{O}_2$, aber es wird auch vermehrt CO_2 abgeatmet. Das führt zu einer respiratorischen Alkalose, was durch eine vermehrte renale Ausscheidung von Bicarbonat ausgeglichen wird. In der Folge kommt es zu einer gesteigerten Diurese und dadurch zu einer Abnahme des Plasmavolumens (2). Als Nebeneffekt wird dadurch die Sauerstoff-Transportkapazität pro Volumeneinheit Blut erhöht (4). Der Ausgleich des Säure-

Basen-Haushaltes erfolgt nur bis 4.100 m über Meeresniveau vollständig. Darüber erfolgt nur noch ein partieller Ausgleich der respiratorischen Alkalose (2).

Durch den aktivierten Sympathikus wird die Herzfrequenz erhöht, wodurch das Herzzeitvolumen gesteigert und der verringerte Sauerstoffgehalt des Blutes ausgeglichen werden soll (5). Allerdings dürfte die Steigerung der Herzfrequenz individuell sehr unterschiedlich sein (2). Die vasokonstriktive Wirkung des aktivierten Sympathikus und die periphere vasodilatative Wirkung der Hypoxie heben sich gegenseitig auf, sodass der Blutdruck im systemischen Kreislauf nahezu nicht auf eine Höhenexposition reagiert (5). In der Lungenstrombahn wirkt die Hypoxie hingegen gefäßverengend, was zu einer Steigerung des pulmonalen Blutdrucks führt. Erst bei längeren Aufenthalten in großen Höhen und der damit einhergehenden Akklimatisation steigt auch der systemische Blutdruck (2,5,6).

Die maximale aerobe Leistungsfähigkeit gemessen anhand der VO_{2max} sinkt mit steigender Höhe. Über 1.500 Meter über dem Meeresniveau sinkt die VO_{2max} um etwa 1% pro 100 Meter. Das bedeutet, dass die VO_{2max} auf etwa 5.000 Meter um 35% eingeschränkt ist (2,4,5). Durch diese Effekte sinkt die Sauerstoffsättigung des Blutes nicht in dem Ausmaß, wie es initial aus der Sauerstoffbindungskurve zu erwarten wäre. Durch die Hyperventilation steigt der alveoläre Sauerstoffpartialdruck und durch die entstehende Alkalose kommt es zu einer Linksverschiebung der Sauerstoffdissoziationskurve, was bedeutet, dass bereits bei einem geringeren Partialdruck mehr Sauerstoff an das Hämoglobin gebunden wird, als dies bei einem normalen pH-Wert der Fall wäre (7).

Bereits nach kurzer Zeit wird durch die Hypoxie in der Niere die Ausschüttung von Erythropoetin deutlich hochgefahren. Dieser initiale Erythropoetin-Schub verbleibt zwar nach wenigen Tagen wieder, bleibt jedoch weiterhin stabil auf leicht erhöhtem Niveau. Ein signifikanter Anstieg der Erythrozytenzahl und des Hämoglobins lässt sich allerdings erst nach etwa 2 Wochen feststellen (4,5).

In zahlreichen Arbeiten wurde bereits beschrieben, dass es während dem Aufenthalt in großen Höhen beziehungsweise während einer Hypoxie zu oxidativem Stress kommt. Obwohl weniger Sauerstoff zur Verfügung steht, scheint die oxidative Veränderung von Biomolekülen zuzunehmen (8,9). Aber was verstehen wir unter oxidativem Stress?

2.2. Oxidativer Stress

Oxidativer Stress beschreibt einen pathophysiologischen zellulären Zustand, bei dem das Gleichgewicht zwischen prooxidativen Substanzen und der antioxidativen Abwehr zur Seite der Oxidantien verschoben ist. In der Folge kommt es zu einer Schädigung von Biomolekülen (10).

Im menschlichen Organismus kommt es, bedingt durch Stoffwechselfvorgänge aber auch durch äußere Einflüsse, ständig zur Bildung von sogenannten reaktiven Sauerstoffspezies (reactive oxygen species; ROS). Diese sind ausgesprochen reaktionsfreudig und in der Lage, alle relevanten Gruppen von Biomolekülen zu verändern. Diese Vorgänge werden verdächtigt, in Zusammenhang mit Alterungsprozessen, Degeneration und maligner Transformation von Zellen zu stehen. Da sie in erster Linie die Oxidation von anderen Molekülen bewirken, werden sie auch als Oxidantien bezeichnet. Viele Vertreter davon sind Radikale, haben also ein ungepaartes Valenzelektron. Zu den wichtigsten Vertretern der Gruppe der ROS zählen (10):

Superoxid-Anion (Hyperoxid-Anion)	$\cdot\text{O}_2^-$
Perhydroxy-Radikal	$\cdot\text{O}_2\text{H}$
Wasserstoffperoxid	H_2O_2
Hydroxyl-Radikal	$\cdot\text{OH}$
Alkoxy-Radikale	$\cdot\text{OR}$ (R = organischer Rest)
Peroxy-Radikale	$\cdot\text{OOR}$ (R = organischer Rest)
Hydroperoxide	ROOH (R = organischer Rest)

Weitere Vertreter sind Ozon (O_3), Sauerstoff im ersten Anregungszustand (Singulett-Sauerstoff) und angeregte Carbonyle.

Aber nicht nur Sauerstoffspezies führen zu oxidativen Schäden, auch andere reaktive Verbindungen können als Oxidantien wirken. Dazu zählen etwa reaktive Stickstoffspezies (reactive nitrogen species; RNS), welche häufig durch eine Reaktion von Stickstoffmonoxid ($\text{NO}\cdot$) entstehen und sogenannte reaktive Halogenspezies (reactive halogen species; RHS). Die wichtigsten Vertreter dieser Gruppen sind Stickstoffmonoxid ($\text{NO}\cdot$), Stickstoffdioxid ($\cdot\text{O}_2\text{N}$) und Peroxynitrit

(ONOO⁻ bzw. ONOOH), sowie die von neutrophilen Granulozyten gebildete hypochlorige Säure (HClO) (11).

Hinsichtlich ihrer Reaktionsfreudigkeit unterscheiden sich die ROS erheblich. Die Unterschiede in der Reaktivität zeigen sich in den sehr unterschiedlichen Halbwertszeiten. Das hochreaktive Hydroxyl-Radikal hat eine enorm kurze Halbwertszeit von 10⁻⁹ Sekunden. Das Wasserstoffperoxid ist wesentlich weniger reaktiv, sodass daraus sogar stabile Lösungen hergestellt werden können und es im Körper hauptsächlich über enzymatische Systeme abgebaut wird (12,13). Die unterschiedlichen Halbwertszeiten haben auch Einfluss auf die Diffusionsfähigkeit der einzelnen Oxidantien. Das Hydroxyl-Radikal kann aufgrund seiner kurzen Halbwertszeit kaum diffundieren und reagiert somit in unmittelbarer Nähe seines Entstehungsortes (12).

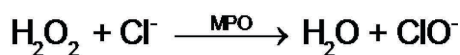
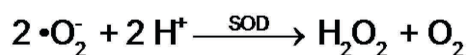
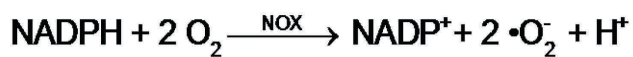
Während sich die Forschung noch vor einigen Jahrzehnten hauptsächlich auf die von Oxidantien hervorgerufenen Schäden konzentrierte, wurde in den letzten Jahren der Fokus zunehmend auch auf die positiven Effekte von ROS gelegt. Viele reaktive Moleküle spielen wichtige Rollen in zellulären Signalwegen (signalling pathways), welche unter anderem in die Gen-Expression oder die Enzym-Aktivität (z. B. über Phosphorylierungen) eingreifen (14). Auch im Hinblick auf Hypoxie und große Höhen scheinen solche Signalwege von Bedeutung zu sein. Es gibt Hinweise darauf, dass ROS wichtig für die Stabilisierung von HIF1- α (hypoxia inducible factor 1 – α) sind. Dieser Transkriptionsfaktor spielt eine wichtige Rolle für die Induktion der Mechanismen für die Adaptation an große Höhe (15,16).

Dieser Gruppe von oxidativen Molekülen steht ein differenziertes antioxidatives Abwehrsystem gegenüber, um den Schaden an Proteinen, Kohlenhydraten, Lipiden und Nukleinsäuren weitgehend zu verhindern.

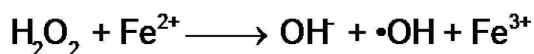
2.2.1. Mechanismen zur Entstehung von reaktiven Spezies

Das Mitochondrium wird als die bedeutendste endogene Quelle für ROS im menschlichen Organismus angesehen (17). Zu den wichtigsten Enzymen, die ROS im Mitochondrium bilden, zählen die Komplexe I – IV der Elektronentransportkette, wie auch die Monoaminoxidase (MAO).

Aber es gibt auch andere endogene Quellen für reaktive Spezies. Besonders bei der Immunabwehr und daher auch im Rahmen von Entzündungsreaktionen kommt es zu einer nicht unwesentlichen Bildung von Oxidantien. Ein wichtiges Enzym, welches als Hauptprodukt ein Oxidans produziert, ist die NADPH-Oxidase (NOX). Die sieben Subtypen des Enzyms kommen in zahlreichen Geweben (z.B. Endothel) und Zellen (z.B. Phagozyten) vor (18) und produzieren dort mit NADPH als Elektronenlieferant zwei Superoxid-Anionen ($2 \cdot \text{O}_2^-$) aus 2O_2 . Hauptaufgabe ist die Abwehr von Mikroorganismen wie Bakterien und Pilze. Durch das Enzym Superoxid-Dismutase (SOD) wird das Superoxid-Radikal in Wasserstoffperoxid umgewandelt. In weiterer Folge können durch das Enzym Myeloperoxidase (MPO) Chloridionen mit H_2O_2 in Hypochloritionen umgewandelt werden.



Eine weitere Quelle von reaktiven Spezies sind metallkatalysierte Reaktionen, wie etwa die Fenton-Reaktion. Dabei reagiert Wasserstoffperoxid zu einem Hydroxyl-Radikal und einem Hydroxid-Ion, während zweiwertiges Eisen (Fe^{2+}) zu dreiwertigem Eisen (Fe^{3+}) oxidiert wird (19,20).



2.2.2. Oxidative Schäden und Veränderungen an Biomolekülen

Oxidantien können jede Gruppe der im menschlichen Körper vorkommenden Biomoleküle verändern. Diese Veränderungen werden für Alterungsprozesse, Degeneration, Krebsentstehung und die Mitwirkung an der Entstehung zahlreicher Erkrankungen verantwortlich gemacht (19-22).

Lipidperoxidation

Eine spezifische Form von oxidativer Schädigung in lipophilen Umgebungen, wie etwa Zellmembranen oder Lipoproteinen, ist die Lipidperoxidation. Diese Reaktion kann sowohl enzymatisch als auch nicht-enzymatisch erfolgen. Hier wird die nicht-enzymatische, also die durch reaktive Spezies medierte, Lipidperoxidation erläutert.

Nach einer Startreaktion durch ein reaktives Molekül und einer ungesättigten Fettsäure kommt es zu einer Kettenreaktion, bei der ungesättigte Fettsäuren oxidiert werden und neue Radikale entstehen, welche die Kettenreaktion fortführen, wie in Abbildung 2 dargestellt. Die Startreaktion erfolgt an einer Allylgruppe einer ungesättigten Fettsäure, welche sehr anfällig für Oxidation ist. Durch ein reaktives Molekül (in Abbildung 2 ist es ein Hydroxyl-Radikal) wird die Allylgruppe oxidiert und es entsteht ein Lipid-Radikal.

Durch Anlagerung von O_2 bildet sich ein Lipid-Peroxy-Radikal. Dieses kann nun mit einer weiteren ungesättigten Fettsäure zu einem Fettsäure-Hydroperoxid reagieren. Dabei bildet sich ein neues Fettsäure-Radikal, wodurch die Kettenreaktion weitergeführt wird (19,20,23).

Zum Abbruch der Kettenreaktion kommt es, wenn zwei Radikale miteinander reagieren, oder wenn alle Radikale mit Antioxidantien reagiert haben und keine reaktiven Moleküle verblieben sind. Das bedeutendste Antioxidans im lipophilen Milieu ist α -Tocopherol (Vitamin E). Es fungiert sowohl als Unterbrecher der Kettenreaktion als auch als Radikalfänger zur Verhinderung, dass diese gestartet wird (19,20,23).

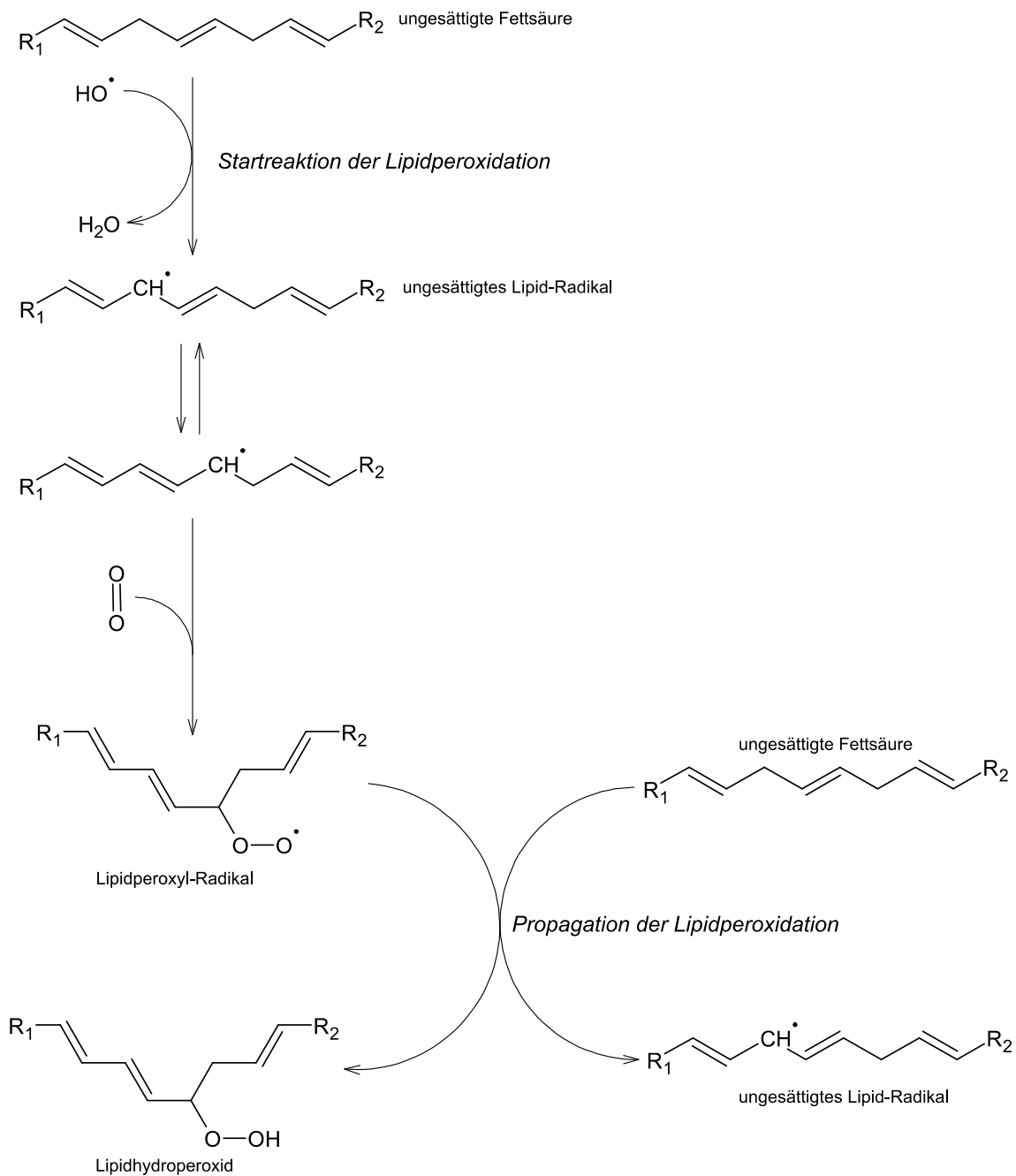


Abbildung 2: Die Lipidperoxidation, modifizierte Abbildung nach Ayala et al. (24). Das Lipidperoxyl-Radikal kann wiederum ungesättigte Fettsäuren oxidieren und trägt somit zur Propagation der Lipidperoxidation bei. Es kann jedoch auch der Malondialdehyd daraus entstehen, wie in Abbildung 3 dargestellt.

Malondialdehyd (MDA)

Bei der Oxidation von mehrfach ungesättigten Fettsäuren reagieren ROS mit deren Doppelbindungen und bilden Hydroperoxide (ROOH). Beim Abbau von diesen entstehen verschiedene, zum Teil mutagene oder toxische Aldehyde (25,26) Eines

der Hauptprodukte dabei ist der Malondialdehyd (MDA) (vgl. Abbildung 3), welcher cytotoxisch und vermutlich auch das mutagenste der Produkte der Lipidoxidation ist (24,25). Die Bedeutung dieses Moleküls liegt aber insbesondere auch darin, dass es historisch als ein leicht messbares Produkt der Lipidoxidation, besonders der Omega-3- und Omega-6-Fettsäuren, häufig zur Quantifizierung von oxidativen Lipidschäden genutzt wurde und nach wie vor wird (24). Aus diesem Grund wurde auch für die vorliegende Arbeit MDA bestimmt, um die Messung von oxidativem Stress mit einem dafür bereits lange verwendeten Wert zu vergleichen.

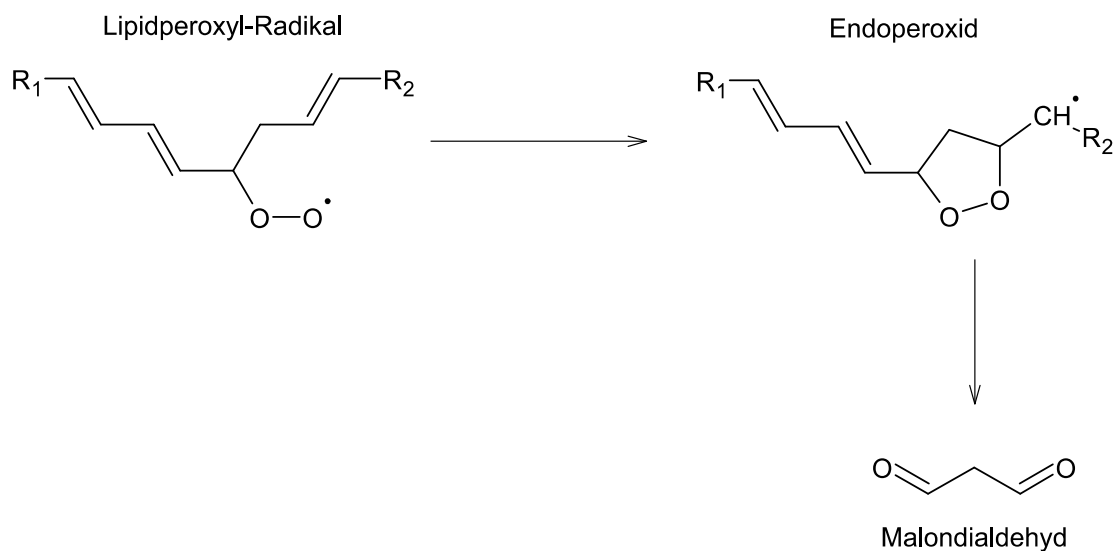


Abbildung 3: Entstehung von Malondialdehyd aus einem Lipidperoxy-Radikal über die Bildung eines Endoperoxids (27)

MDA kommt im menschlichen Körper sowohl gebunden an –SH- und –NH-Gruppen von Makromolekülen wie Proteinen oder Nukleinsäuren vor, als auch in geringeren Mengen als freies Molekül (26). MDA ist sehr nukleophil und elektrophil, wodurch es zu Oligomeren kondensieren kann. Es besteht eine Keto-Enol-Tautomerie (wie in Abbildung 4 dargestellt), wobei jedoch bei physiologischem pH-Wert überwiegend die Enol-Form vorliegt, welche auch weniger reaktionsfreudig ist (24,28).

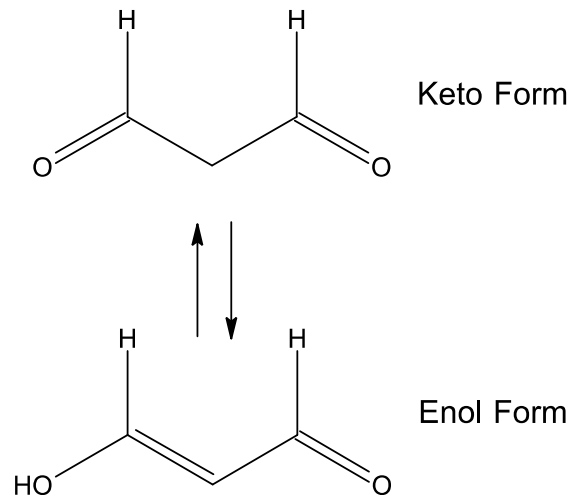


Abbildung 4: Keto-Enol-Tautomerie des Malondialdehyd.

Oxidative Schäden von Nukleinsäuren

Veränderungen an Nukleinsäuren, besonders an der DNS haben insofern große Relevanz, da es durch oxidative Schädigungen zu Veränderungen am Erbgut kommen kann. Das kann zu Zelluntergang durch programmierten Zelltod (Apoptose), maligne Transformation und Zellalterung führen. Betroffen sind sowohl die nukleäre als auch die mitochondriale DNS (19,20).

Oxidative Schäden an Kohlenhydraten

Auch Kohlenhydrate werden durch reaktive Spezies verändert. Besonders anfällig sind jene der extrazellulären Matrix. Dazu zählen unter anderem Proteoglykane, wie Fibronectin und Glykosaminoglykane, wie Hyaluronsäure. Typischerweise oxidieren die Kohlenhydrate durch Abspaltung von Wasserstoff von einer der vielen C-H-Bindungen. Dadurch kommt es zur Bildung eines α -Hydroxyalkyl-Radikals. Wenn sich eine C-OH-Gruppe neben dem radikalen C-Atom befindet, kann es unter Abspaltung von Wasser zur Bildung einer C=O-Bindung kommen. Weitere Folgereaktionen sind eine β -Spaltung, wodurch glykosidische Bindungen getrennt werden können, oder eine Bildung von Peroxyl-Radikalen durch Reaktionen mit O_2 . Durch diese Reaktionen verlieren die Kohlenhydratverbindungen häufig ihre Eigenschaften, wodurch es zu funktionellen Veränderungen kommt (21). Zudem konnte gezeigt werden, dass ROS die Glykokalix von Glomerulusendothelzellen,

welche aus Proteoglykanen besteht, schädigen. Der zugrunde liegende Mechanismus ist die Depolymerisation der Glykosaminoglykanketten der Proteoglykanen (29).

Oxidative Schäden an Proteinen

Von besonderer Bedeutung für die vorliegende Arbeit ist die oxidative Veränderung von Proteinen. Für Oxidation besonders anfällige Aminosäuren sind die beiden schwefelhaltigen Methionin und Cystein. Durch oxidative Veränderung des Schwefelatoms im Methionin entsteht Methionin-Sulfoxid, wie in Abbildung 5 dargestellt. Diese Modifikation führt häufig zu einem Verlust der Proteinfunktion, kann jedoch durch das Enzym Methionin-Sulfoxid-Reduktase wieder umgekehrt werden (20).

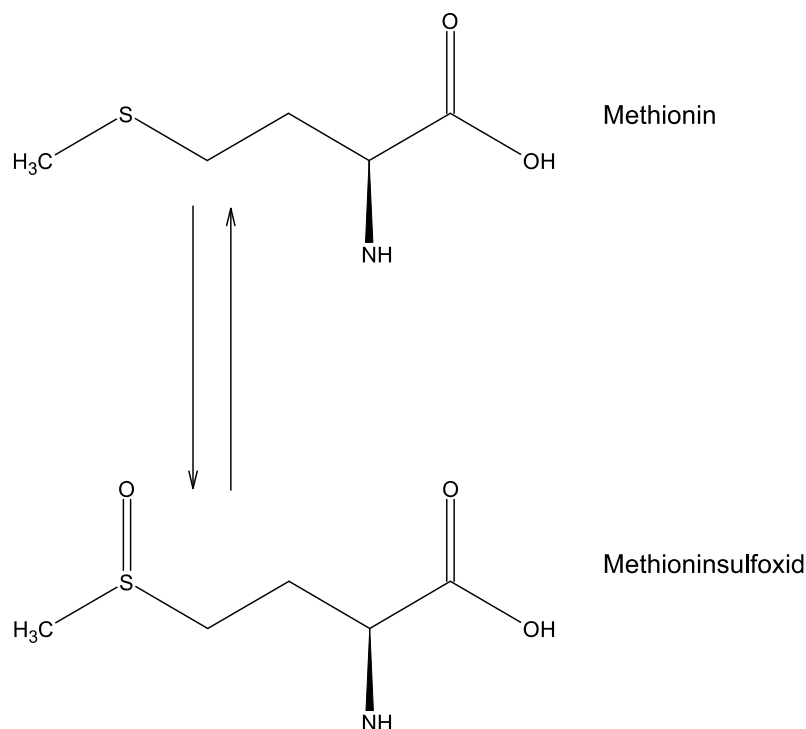


Abbildung 5: Methionin und Methioninsulfoxid als oxidierte Form. Die Oxidation kann durch das Enzym Methioninsulfoxid-Reduktase wieder umgekehrt werden.

Die Aminosäure Cystein hat eine freie Thiolgruppe, welche leicht oxidiert wird. Die typische Redoxreaktion der Thiolgruppe ist die Bildung einer Disulfidbrücke mit einer anderen oxidierten Thiolgruppe. Tritt diese zwischen zwei Cystein-Molekülen auf, so bildet sich die Aminosäure Cystin. Diese Verbindung kommt häufig in Proteinen vor

um die Tertiärstruktur zu bilden. Ein weiteres Beispiel für eine durch Oxidation entstandene Disulfidbrücke ist die Bildung von Glutathiondisulfid aus zwei Molekülen Glutathion (siehe Abschnitt Antioxidative Abwehrsysteme). Auch zwischen zwei verschiedenen Proteinen kann es zur Ausbildung von Disulfidbrücken und somit zu einer Vernetzung von Makromolekülen kommen. Durch ein Enzym aus der Klasse der Disulfid-Reduktasen, wie etwa die Glutathion-Disulfid-Reduktase, können diese Reaktionen rückgängig gemacht werden (20,30,31).

Eine Thiolgruppe kann jedoch noch stärker oxidiert werden. Es kommt dann zur Bildung von Sulfin- oder Sulfonsäuren, wie in Abbildung 6 dargestellt. Diese Oxidation ist irreversibel und das betroffene Protein muss, sofern die Oxidation seine Funktion einschränkt, abgebaut werden. Stark oxidierte Proteine werden von Proteasen erkannt und zu Aminosäuren abgebaut (20,30,31).

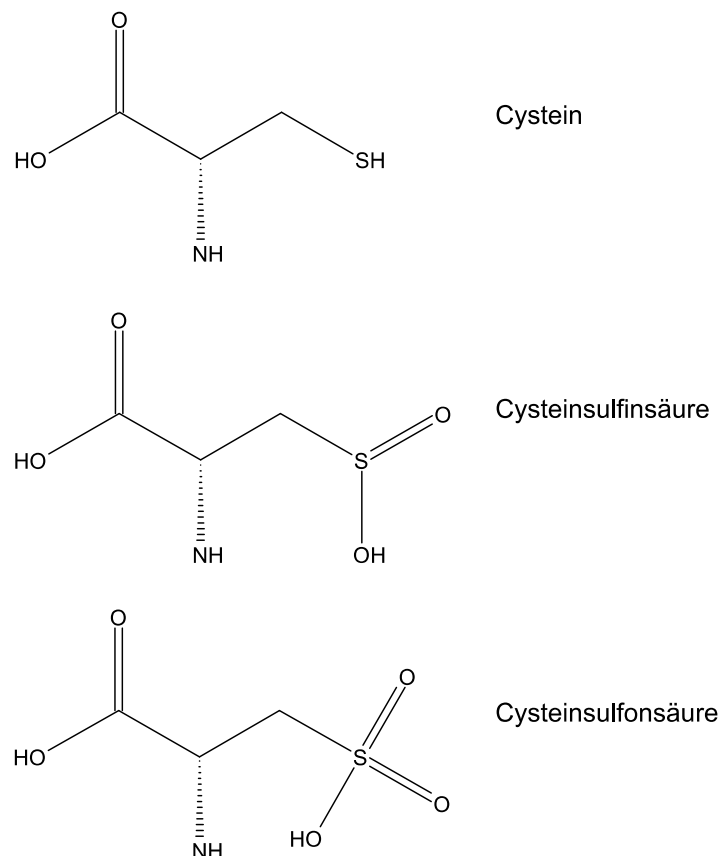


Abbildung 6: Reduziertes Cystein und die irreversibel oxidierten Formen als Sulfin- und Sulfonsäure.

Durch die Bildung von Disulfiden kann es innerhalb eines Proteins zu Modifikationen der Tertiärstruktur bis hin zur Denaturierung kommen. Diese können zur Veränderung der Proteinfunktion oder sogar dem vollständigen Verlust derselben führen. Es gibt Hinweise, dass oxidativ modifiziertes Albumin eine verminderte Bindungskapazität für Bilirubin und andere Liganden aufweist (20,32,33). Die oxidativen Veränderungen werden im Unterkapitel Albumin näher behandelt.

2.3. Antioxidative Abwehrsysteme

Um Leben in der Gegenwart von Sauerstoff und damit von reaktiven Spezies zu ermöglichen, gibt es ein dicht ineinandergreifendes System von antioxidativen Abwehrmechanismen. Man unterscheidet zwischen enzymatischen und nicht enzymatischen Abwehrmechanismen. Die Aufgabe der nicht enzymatischen Abwehr ist es, selbst mit reaktiven Spezies zu weniger reaktiven Verbindungen zu reagieren, also oxidiert zu werden. Durch diese sogenannten Radikalfänger (free-radical scavengers) können reaktive Spezies beseitigt und Kettenreaktionen unterbunden werden. Eine wichtige Gruppe von Radikalfängern sind zum Beispiel Moleküle mit einer freien Thiolgruppe (-SH), sogenannte Thiole. Dazu zählen auch Glutathion und Mercaptalbumin, welches eine freie Thiolgruppe am Cystein an Position 34 besitzt. Dieses ist zudem der größte Thiolpool im menschlichen Blut (31). Die enzymatischen Abwehrsysteme zielen darauf ab, die Reaktionen von reaktiven Spezies zu ungefährlichen Verbindungen zu katalysieren. Nachfolgend sind einige der wichtigsten nicht-enzymatischen und enzymatischen antioxidativen Abwehrsysteme aufgelistet. Diese Listen sind keine vollständigen Auflistungen aller antioxidativen Abwehrsysteme.

Nicht enzymatische Abwehr und Radikalfänger (10,20):

Alpha-Tocopherol (Vitamin E)

Ascorbinsäure/Ascorbat (Vitamin C)

Beta-Carotin (Vitamin A)

Harnsäure/Urat

Flavonoide

Glutathion ($\text{GSH} + \text{GSH} \xrightarrow{\text{Oxidation}} \text{GSSG} + \text{H}_2$; GSSG = Glutathion-Disulfid)

Ubichinol/Ubichinon

Plasmaproteine (wie Coeruloplasmin, Transferrin und Albumin) (31,34-37)

Bilirubin (22)

Melatonin (22)

Enzymatische Abwehrsysteme (10,20):

Superoxid-Dismutase (SOD)

Glutathion-Peroxidase

Glutathion-Reduktase (GSSG-Reduktase)

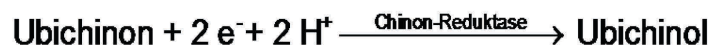
Catalase

NAD(P)H-Dehydrogenase/Chinon-Reduktase

Einige der enzymatischen Abwehrmechanismen zielen darauf ab, reaktive Spezies direkt unschädlich zu machen. Dazu zählen die Superoxid-Dismutase, die Glutathion-Peroxidase oder aber auch die Katalase.



Andere Enzyme sorgen dafür, dass nicht-enzymatische Antioxidantien regeneriert werden, wie etwa die Glutathionreduktase (GSSG-Reduktase) oder die Chinon-Reduktase.



Die verschiedenen Mechanismen greifen dabei oft eng ineinander, sodass ein dichtes Netzwerk aus antioxidativen Systemen entsteht. Ein Beispiel dafür ist die Oxidationskette von Tocopherol bis zur GSSG-Reduktase, welche in Abbildung 7 dargestellt ist (19).

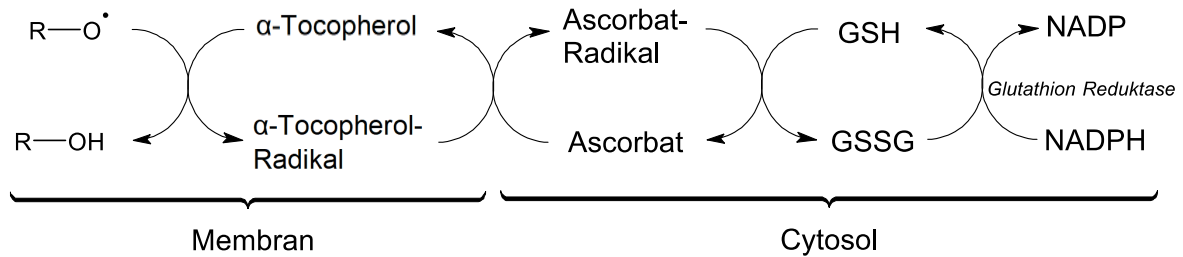


Abbildung 7: Beispiel eines antioxidativen Netzwerkes. Die Oxidation von Ascorbat bzw. die Reduktion des Tocopherol-Radikals erfolgen an der Oberfläche der Zellmembran und stellen somit den Übergang vom lipophilen in das hydrophile Milieu dar. Modifizierte Darstellung nach Bandyopadhyay et al. (19).

Die Plasmaproteine Coeruloplasmin, Transferrin und Albumin sind in der Lage Metallionen (besonders Eisen- und Kupferionen) zu binden. Diese sind dann nicht mehr in der Lage an ROS-generierenden metallkatalysierten Reaktionen wie etwa der Fenton-Reaktion teilzunehmen (20,34,38).

2.3.1. Der Thiol-Pool im menschlichen Plasma

Eine bedeutende Rolle bei Redox-Reaktionen im menschlichen Körper kommt der Oxidation und Reduktion von Thiolgruppen untereinander zu. Zwei freie Thiolgruppen (Mercaptogruppen) oxidieren zu einer sogenannten Disulfidbrücke, wie in Abbildung 8 dargestellt. Die Bildung von Disulfidbrücken spielt insbesondere eine große Rolle bei der Ausbildung der Tertiärstruktur von Proteinen. So bilden 34 der 35 Cystein-Moleküle im Albumin untereinander Disulfidbrücken aus und verleihen dem Protein so seine dreidimensionale Struktur (39).

Aber auch im Bereich der antioxidativen Abwehr ist die Bildung von Disulfidbrücken außerordentlich wichtig, da die dabei ablaufende Oxidation reversibel ist und somit Thiole ein wichtiges Bindeglied in antioxidativen Netzwerken bilden (vgl. Abbildung 7). Besonders bedeutend dabei ist etwa die Oxidation von zwei Glutathion-Molekülen zu Glutathiondisulfid, wie in Abbildung 9 dargestellt (31,40).

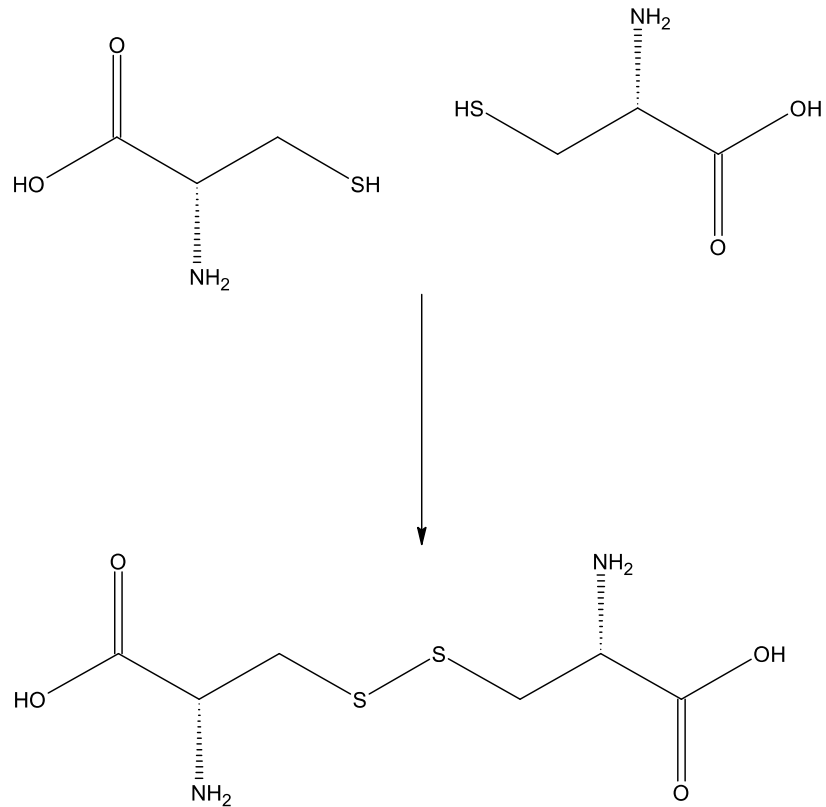


Abbildung 8: Oxidation von zwei Cystein-Molekülen (oben) zu einem Cystin-Molekül (unten).

Die wichtigsten Thiole im menschlichen Blutplasma sind (31):

Humanes Mercaptalbumin (HMA)

Andere Protein-Thiole

Freies Cystein

Cysteinglycin (Dipeptid aus dem Abbau von Peptiden und Proteinen)

Homocystein (Abbildung 10)

Glutathion

Gamma-Glutamylcystein (Vorstufe zu Glutathion)

Schwefelwasserstoff (in sehr geringen Konzentrationen)

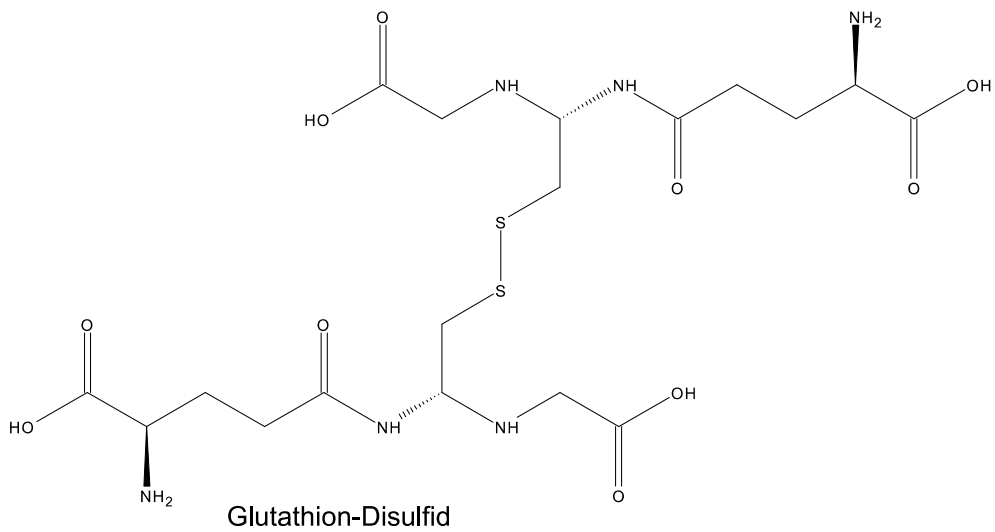
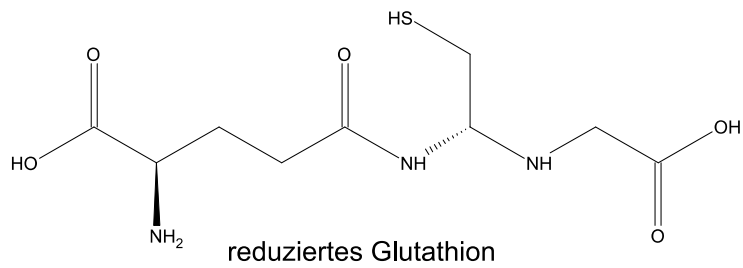


Abbildung 9: Glutathion in reduzierter Form (oben) und zu Glutathion-Disulfid oxidiert (unten).

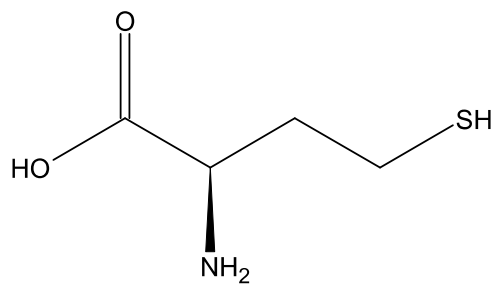


Abbildung 10: Homocystein

Die Protein-Thiole und dabei vor allem das Humane Mercaptalbumin (HMA) machen 70 bis 80% des Thiol-Pools im Blutplasma aus (31,35,39). Generell gibt es im Extrazellulärraum, wozu auch das Blutplasma zählt, deutlich weniger Thiole, als

intrazellulär und die vorhandenen sind vergleichsweise stark oxidiert. Die meisten niedermolekularen Thiole im Plasma sind zu mehr als 90 % oxidiert. Die proteingebundenen Thiole liegen deutlich mehr reduziert vor, so ist etwa der Anteil an reduziertem Albumin (HMA) am Gesamtalbumin bei 75 bis 80%. Auch das Glutathion liegt mit etwa 55% überwiegend im reduzierten Zustand vor (31).

Die mengenmäßig bedeutendste freie Thiolgruppe findet sich allerdings am Albumin-Molekül. Das Cystein an Stelle 34 besitzt keinen Disulfidpartner und trägt dadurch seine Mercaptogruppe frei (30,31,39). Auch diese kann an Redox-Reaktionen teilnehmen und mit anderen Thiolen reversibel Disulfidbrücken eingehen. Bei stärkerer Oxidation kommt es allerdings zur irreversiblen Bildung von Sulfin- und Sulfonsäure (30). Durch diese freie Thiolgruppe zählt Albumin zu einem wichtigen Faktor der antioxidativen Abwehr im menschlichen Blutplasma (31,35). Albumin und seine Redox-Eigenschaften werden im Unterkapitel Albumin näher beschrieben.

2.4. Oxidativer Stress in großen Höhen

Dass es beim Aufenthalt in großen Höhen zu Veränderungen des Redox-Status kommt, wurde bereits vielfach gezeigt (8,9), allerdings konnte bis heute nicht eindeutig nachgewiesen werden, aus welchen Quellen die dafür verantwortlichen reaktiven Sauerstoff-Spezies (ROS) stammen. Es gibt zwar eine Fülle an Theorien, was die Ursache dieses oxidativen Stresses ist, aber vermutlich sind es mehrere Mechanismen, welche bei Hypoxie zur Bildung von ROS führen. Einige in der Literatur beschriebene Mechanismen sollen hier kurz umrissen werden.

Eine sehr gängige Theorie ist etwa, dass während einer Hypoxie nicht genügend Sauerstoffmoleküle im Mitochondrium als Elektronenakzeptoren zur Verfügung stehen. Sauerstoff ist der finale Elektronenakzeptor in der Atmungskette (electron transport chain) im Mitochondrium. Dadurch kommt es zu einer Elektronenakkumulation und es bildet sich mit dem verbliebenen Sauerstoff das Superoxid-Anion (O_2^-). Dieses wiederum reagiert mit Wasser zu den reaktiven Molekülen Wasserstoffperoxid (H_2O_2) und Hydroxyl-Radikal ($\bullet OH$) (8,41,42).

Ein anderer Mechanismus der ROS-Bildung während Hypoxie betrifft das Xanthindehydrogenase/-oxidase-System. Während einer Hypoxie wird in den Zellen Adenosin-Tri-Phosphat (ATP) aus zwei Molekülen Adenosin-Di-Phosphat (ADP) gebildet. Als Nebenprodukt fällt dabei Adenosin-Mono-Phosphat (AMP) an, welches nicht mehr verwendet werden kann und daher zu Hypoxanthin verstoffwechselt wird. Dieses wird dann über die Xanthinoxidase oder Xanthindehydrogenase zu Harnsäure abgebaut. Erfolgt dieser Abbau über die Xanthinoxidase, werden die anfallenden Elektronen auf molekularen Sauerstoff übertragen. Als Nebenprodukte entstehen dabei Superoxid-Anionen oder Wasserstoffperoxid. Dieser Vorgang kann noch verstärkt werden, wenn Calcium-abhängige Proteasen aktiviert werden, welche die Xanthindehydrogenase in Xanthinoxidase überführen können. Das Xanthindehydrogenase/-oxidase-System scheint somit eine bedeutende Quelle von ROS während Hypoxie zu sein (8).

Auch scheinen die körpereigenen antioxidativen Systeme während einer Hypoxie weniger aktiv zu sein als unter normalen Bedingungen. Durch einen Mangel an NADPH kann nicht genug oxidiertes Glutathion (Glutathiondisulfid; GSSG) durch die Glutathionreduktase reduziert werden und dieser Schenkel der antioxidativen Abwehr erschöpft sich (42). Aber auch andere Enzymsysteme sind betroffen. Eine Studie von Maiti et al. aus dem Jahre 2006 konnte eine verminderte Aktivität für die Enzyme Superoxiddismutase (SOD), Glutathionreduktase (GR) und Glutathionperoxidase (GPX) unter hypobarer Hypoxie im Rattengehirn zeigen (41).

Ein weiterer Ansatz ist, dass durch Hypoxie Entzündungsvorgänge getriggert oder verstärkt werden. Es gibt Hinweise, dass es unter Hypoxie zu einer verstärkten Expression von Zytokinen kommt. Liu et al. konnten zeigen, dass IL-1 β , IL-6 und TNF- α , gemessen im Glomus caroticum, bereits nach einem Tag Hypoxie signifikant erhöht waren (43). Eine kleine Studie mit 12 freiwilligen Probanden aus dem Jahr 2015 von Rohm et al. konnte zudem zeigen, dass ein 7-stündiger Aufenthalt in normobarer Hypoxie (Äquivalenzhöhe 5.500 m) zu einer Zunahme des proinflammatorischen Zytokins IL-8 und zugleich zu einer Abnahme des antiinflammatorischen Zytokins IL-10 führt (44). Auch ein Review-Artikel von Eltzschig und Carmeliet aus dem Jahr 2011 fasst anschaulich die engen Beziehungen zwischen Hypoxie und Entzündungsprozessen zusammen (45).

2.5. Albumin

Das zentrale Molekül dieser Arbeit ist das humane Serumalbumin. Albumin ist ein sehr bedeutendes Protein im menschlichen Organismus. Etwa 360 g Albumin finden sich in einem 70 kg schweren menschlichen Körper. Nur etwa ein Drittel befindet sich intravaskulär, also im Blutplasma. Die restlichen beiden Drittel finden sich in unterschiedlichen Geweben und Körperflüssigkeiten. Es kommt etwa im Liquor cerebrospinalis, Speichel, Schweiß, Tränenflüssigkeit und dem Kammerwasser des Auges (Humor aquosus) in sehr unterschiedlichen Konzentrationen vor. Auch in Transsudaten und Exsudaten (Pleura, Aszites,...) ist es ein Hauptbestandteil. Ein sehr großer Anteil (mehr als 40 %) des extravaskulären Albumins findet sich in der Haut, welche eine bedeutende Albumin-Speicherfunktion besitzen dürfte (46).

Das humane Albumin hat eine Molekülmasse von 66.438,41 Dalton (Da) und besteht aus 585 Aminosäuren. In der Sekundärstruktur besteht es zu 67% aus Alpha-Helices. Beta-Faltblatt-Strukturen enthält es nicht (vgl. Abbildung 11) (39). Es wird in den Hepatozyten gebildet und hat eine biologische Halbwertszeit von etwa 19 Tagen. Daraus ergibt sich, dass bei einer Gesamtmenge von 360 g Albumin täglich etwa 13,3 g abgebaut werden und daher auch in diesem Ausmaß neu gebildet werden müssen. Das sind etwa 3,7% der Gesamtmenge (46).

Neben der Aufgabe, ein großer Proteinspeicher zu sein, besitzt Albumin im menschlichen Körper eine Reihe von wichtigen Transportfunktionen. Es transportiert unter anderem Fett- und Aminosäuren, Bilirubin, Kupfer- und Kalziumionen, Steroid- und Schilddrüsenhormone und Phospholipide. Aber auch zahlreiche Medikamente werden an Albumin gebunden durch den Blutkreislauf transportiert. Eine weitere wichtige Aufgabe des Albumins ist die Aufrechterhaltung des kolloidosmotischen Drucks. Obwohl es „nur“ 60% der Masse der Plasmaproteine ausmacht, ist es für 80% des kolloidosmotischen Druckes verantwortlich. Zudem ist es das wichtigste Pufferprotein für den Säure-Basen-Haushalt. Auch besitzt Albumin eine antioxidative Wirkung besonders durch die freie Thiolgruppe des Cystein an Position 34 (46,47).

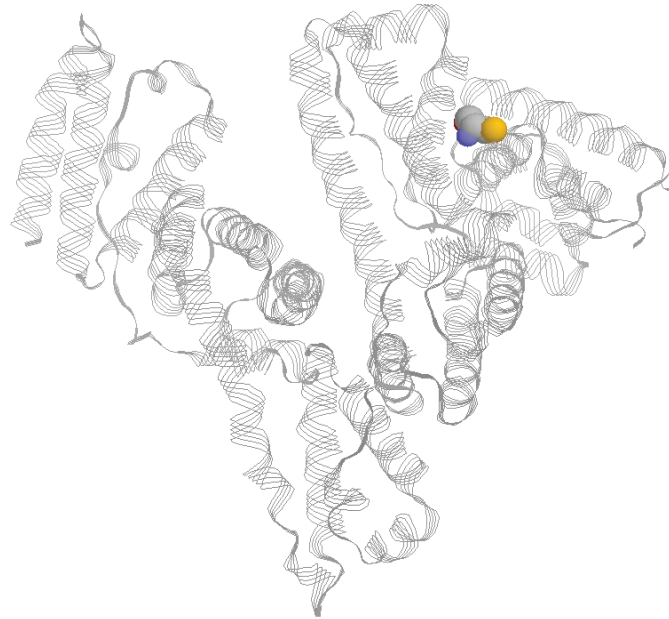


Abbildung 11: Humanes Serumalbumin. Das Cystein an Stelle 34 ist hervorgehoben. Diese Graphik wurde erstellt auf Basis der PDB-Datei 1BJ5 von Curry et al. (48)

Der Abbau von Albumin erfolgt an vielen Orten im menschlichen Körper. Leber, Niere und Gastrointestinaltrakt sind daran beteiligt, aber auch in der Haut und der Muskulatur wird ein erheblicher Teil des Proteins abgebaut (46).

2.5.1. Die Redoxzustände des Albumins

Die primäre Fragestellung der vorliegenden Arbeit ist, ob sich der Redoxzustand der Aminosäure Cystein an Position 34 (cys-34) des Albuminmoleküls bei plötzlicher, normobarer Hypoxie-Exposition ändert. Die Thiolgruppe des cys-34 ist als einzige nicht an einer der intramolekularen Disulfidbindungen beteiligt und liegt an der Außenseite des Albuminmoleküls. Es kann daher oxidiert und auch reduziert werden. Die vollständig reduzierte Form wird auch als humanes Mercaptalbumin (HMA) bezeichnet, denn das Cystein liegt mit einer freien Thiol-Gruppe (Mercapto-Gruppe) vor. Das HMA kann reversibel zum sogenannten humanem Non-Mercaptalbumin 1 (HNA-1) oxidiert werden. Das Cystein liegt dann als Disulfid mit einem anderen Thiol, wie etwa einem zweiten Cystein, Homocystein oder Gluthation vor. Wird das HNA-1 weiter oxidiert, so ist dieser Prozess irreversibel und es entsteht humanes Non-Mercaptalbumin 2 (HNA-2). Dabei liegt das Cystein als Sulfin- oder Sulfonsäure vor

(vgl. Abbildung 6) (30,31,47). Beim jungen und gesunden Menschen liegt der Anteil von HMA bei etwa 80%, der von HNA-1 etwa bei 18% und der von HNA-2 überwiegend unter 4% (vgl. Abbildung 12). Veränderungen dieser Verteilungen werden überwiegend bei Menschen mit Leber oder Nierenerkrankungen beobachtet. Die Albuminfraktionen lassen sich durch eine HPLC einfach und sicher bestimmen. Das Verfahren wird im Abschnitt Methoden ausführlich beschrieben.

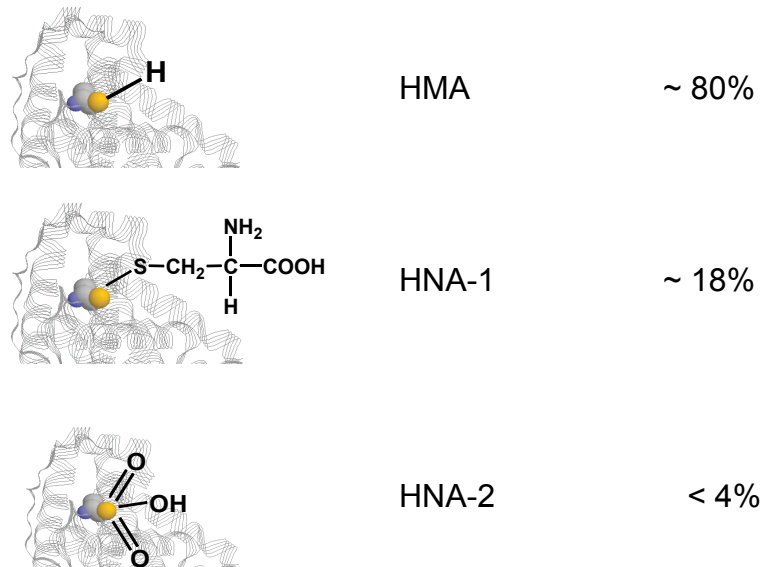


Abbildung 12: Die unterschiedlichen Redox-Zustände des Albumins. Beim HMA liegt das Cystein an Stelle 34 mit einer Thiolgruppe (-SH) vor. Das HNA-1 ist hier als Disulfid mit einem weiteren Cystein-Molekül dargestellt und das HNA-2 liegt in dieser Abbildung als Sulfonsäure vor.

Da es sich hierbei um eine Pilotstudie handelt, wurde die Höhenexposition von 5.000 m nicht durch eine tatsächliche Exposition der Probanden in eine große Höhe erreicht, sondern durch einen Aufenthalt der Probanden in einer sogenannten Höhenkammer. Das heißt, dass die große Höhe durch eine sogenannte normobare Hypoxie simuliert wird. Es wird also nicht der Luftdruck verändert, so wie dies im Hochgebirge der Fall ist, sondern der Sauerstoffgehalt der Atemluft. Der Sauerstoffpartialdruck ändert sich allerdings so wie in großen Höhen. Diese Anlagen eignen sich also ausgezeichnet um höhenmedizinische Fragestellungen einfach und unter gut kontrollierbaren Bedingungen durchzuführen. Die Anlage in Graz, mit der dieser Diplomarbeit zu Grunde liegende Versuch durchgeführt wurde, wird im Abschnitt Methoden genauer beschrieben.

3. Methoden

3.1. Beschreibung der Höhenkammer

Die für den Versuch verwendete Höhenkammer befindet sich am Institut für Sportwissenschaften der Karl-Franzens-Universität Graz. Es handelt sich um eine 30 Kubikmeter fassende luftdichte Kammer aus einem Aluminiumrahmen und Plexiglaswänden der Firma Hypoxico, welche durch 4 Generatoren vom Typ Hypoxico Everest II betrieben wird. Durch Druckwechseladsorption an Zeolith wird Sauerstoff abgetrennt und so dessen Anteil in der Atemluft reduziert. Dadurch wird der Sauerstoffpartialdruck so weit gesenkt bis er dem der gewünschten Zielhöhe entspricht. Für die angestrebte Zielhöhe von 5.000 Meter Seehöhe musste der Sauerstoffpartialdruck auf 100 - 110 mbar abgesenkt werden. Das bedeutet, der Sauerstoffgehalt der Atemluft musste auf etwa 11% eingestellt werden.



Abbildung 13: Die Höhenkammer am Institut für Sportwissenschaften in Graz.

3.2. Ablauf des Versuchs

Die Pilotstudie wurde im Vorfeld von der Ethikkommission der Medizinischen Universität Graz genehmigt (EK-Nummer: 27-285 ex 14/15; siehe Anhang). Für die Durchführung des Versuchs wurden zunächst 33 gesunde junge Probanden und Probandinnen rekrutiert. Durch einen ausführlichen Anamnese-Fragebogen (siehe Anhang) wurden etwaige Ausschlusskriterien, welche bei der Planung des Versuchs definiert wurden, erhoben. Die Ausschlusskriterien für die Teilnahme waren:

- Lebererkrankungen
- Nierenerkrankungen
- Lungenerkrankungen
- Herz- und Gefäßerkrankungen
- Arterieller Hochdruck
- Maligne Erkrankungen
- Schwangerschaft
- Autoimmunerkrankungen
- Diabetes mellitus
- Akute oder chronische Infektionen
- Externe Ernährungsformen (Veganismus, spezielle Diäten)
- Tabakkonsum
- Kürzlich durchgemachte Höhenakklimatisation

Außerdem konnten mit dem Fragebogen zusätzliche Informationen über die Probanden in Erfahrung gebracht werden, welche einen möglichen Einfluss auf die Hauptzielgrößen haben könnten, wie etwa die subjektive Frage nach dem Ausmaß von körperlicher Aktivität und Sport oder die Medikamentenanamnese.

Vor Betreten der Kammer wurden die Probanden noch mündlich und schriftlich über die möglichen Komplikationen und Wirkungen beim Aufenthalt in der Hypoxiekammer, über die Möglichkeit, den Versuch jederzeit und ohne Angabe von Gründen abbrechen zu können, sowie über die Blutabnahmen aufgeklärt. Um bei dem Versuch teilnehmen zu können, wurden noch von jedem Probanden eine persönlich unterschriebene Zustimmungserklärung eingeholt. Das Informationsblatt sowie die Zustimmungserklärung finden sich im Anhang.

Im Anschluss daran wurde von jedem Probanden Blutdruck, Herzfrequenz und Sauerstoffsättigung bei Raumluft bestimmt sowie 12 mL Blut (8 mL EDTA-Blut und 4 mL Na-Heparin-Blut) abgenommen. Der Blutdruck wurde mittels oszillatorischer, automatischer, nicht-invasiver Methode gemessen. Das verwendete Gerät war ein Boso-medicus von der Firma Bosch und Sohn GmbH. Die Herzfrequenz und die Sauerstoffsättigung wurden mit einem einfachen photometrischen Fingerpulsoximeter (Modell MD300C2) bestimmt. Im Anschluss an diese ersten Messungen wurden die Probanden in die Kammer geschickt. Im Zuge des Versuchs wurden Blutdruck, Herzfrequenz und Sauerstoffsättigung stündlich mit den oben beschriebenen Verfahren kontrolliert. Nach vier Stunden Aufenthalt in der Kammer wurden diese Messungen ein letztes Mal wiederholt und eine zweite Blutabnahme im Ausmaß von 4 mL EDTA-Blut durchgeführt.

3.3. Bestimmung der Albuminfraktionen

Für die Bestimmung des Albumin-Redoxzustandes wurde EDTA-Blut zentrifugiert (2500 U/min für 10 Minuten) und das so gewonnene Blutplasma bei minus 70° Celsius tiefgefroren. Diese Temperatur garantiert, dass die Albuminanteile auch bei längerer Lagerung stabil und unverändert bleiben (30). Zur weiteren Analyse nach der Lagerung wurden die Plasmaproben wieder auf Raumtemperatur erwärmt und mit einem Vibrationsmischer durchmischt. Die Analyse der Proben mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) erfolgte nach der von Iwai et al. 2005 beschriebenen Methode (49). Für die HPLC wurden die Plasmaproben im Verhältnis 1:100 mit Probenbuffer (0.1 M Natriumphosphat und 0.3 M Natriumchlorid; pH 6.87) verdünnt und durch einen Whatman 0.75 µm Nylonfilter (7.5 x 100 mm, Bartelt Labor- & Datentechnik, Graz) gefiltert. Die verwendete Anlage für die HPLC bestand aus einer Merck-Hitachi L2130 Gradienten-Pumpe (VWR, Wien), einem Shimadzu SIL-20AC Autosampler, einem Shimadzu CTO Säulenofen (Shimadzu Austria, Wien) und einem Jasco 821-FP Fluoreszenzdetektor (Spectronex, Wien). 20 µL des Probenfiltrates wurden dem HPLC-System zugeführt und entlang einer Shodex Asahipak ES-502N 7C Anionentauscher-Säule (7.5 x 100 mm, Bartelt Labor- & Datentechnik, Graz) mit einer mobilen Phase aus 50 mM Natriumacetat und 400 mM Natriumsulfat (pH 4.85) aufgetrennt. Für die Elution wurde ein Gradient von 0 – 6% Ethanol mit einer Flußrate von 1 mL/min verwendet. Die lineare Änderung des

Ethanol-Gradients erfolgte wie in nachfolgender Tabelle dargestellt (Laufmittel A = Phosphatpuffer, Laufmittel B = Phosphatpuffer + 10% Ethanol):

0 bis 5 Minuten	100% Laufmittel A
5 bis 25 Minuten	Linear ansteigender Gradient bis 40% Laufmittel A und 60% Laufmittel B
25 bis 30 Minuten	40% Laufmittel A und 60% Laufmittel B
30 bis 35 Minuten	Linear absteigender Gradient bis 100% Laufmittel A
35 bis 40 Minuten	100% Laufmittel A

Tabelle 1: Schema des Elutions-Gradienten für die Bestimmung des Albumin-Redoxzustandes mittels HPLC.

Die Säulentemperatur wurde dabei auf 35° C gehalten. Die Detektion erfolgte anhand von Fluoreszenz bei 280 nm (Exzitation) und 340 nm (Emission). Für die Quantifizierung wurde die Fläche unter den Peaks (vergleiche Abbildung 14) der individuellen Detektionskurven durch das Einpassen von Gauss'schen Glockenkurven ermittelt. Das erfolgte mit einer zusätzlichen Software (Peak fit, SPSS Science, IL, USA). Die Berechnung der Albuminfraktionen erfolgte anhand der Formel:

$$\text{HMA \%} = \frac{\text{Fläche HMA}}{\text{Fläche HMA} + \text{Fläche HNA-1} + \text{Fläche HNA-2}} \times 100$$

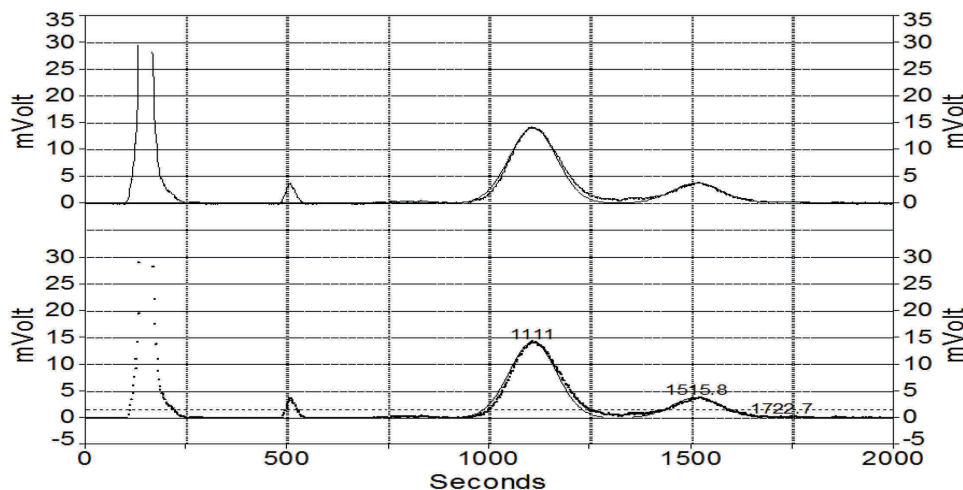
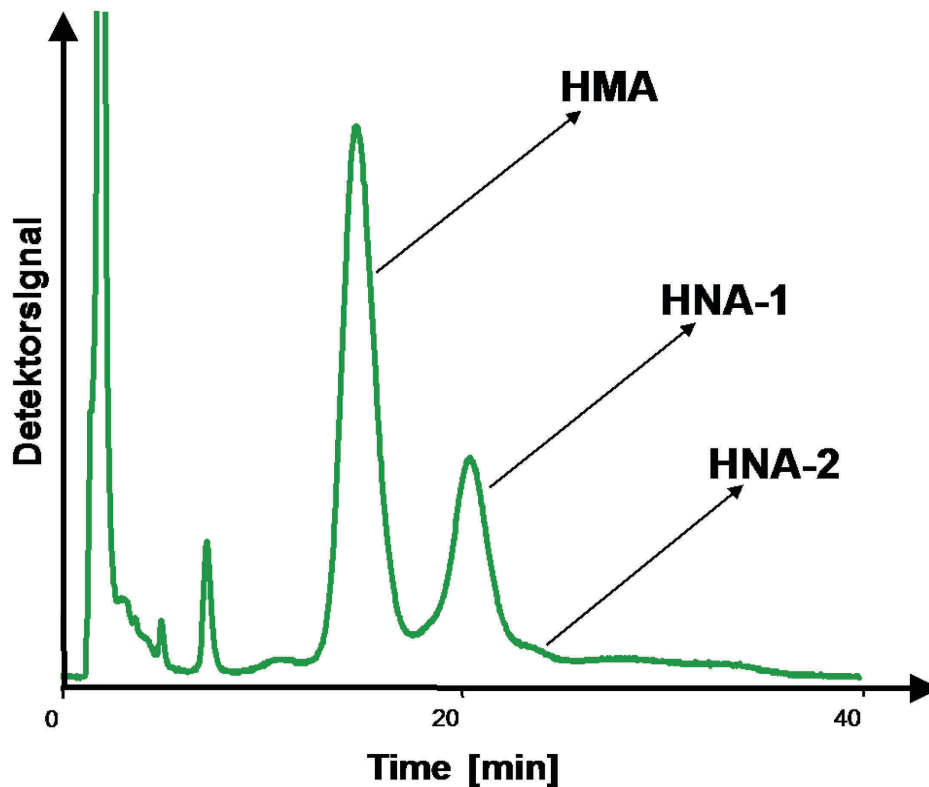


Abbildung 14: Chromatogramme zur Bestimmung der Albumin-Redox-Zustände. Die Abbildung oben beschreibt die einzelnen Albumin-Fractionen. Das Chromatogramm unten ist jenes des Probanden 15 aus der durchgeführten Studie mit den eingepassten Glockenkurven.

3.4. Bestimmung von Malondialdehyd

Die Bestimmung von MDA erfolgte am Institut für Physiologische Chemie in Graz durch eine Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) aus EDTA-Plasma. Die Messung erfolgte im Prinzip nach dem von Pilz et al. beschriebenen Verfahren nach Derivatisierung mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin (26). Für die alkalische Hydrolyse von proteingebundenem MDA wurden 25 μL einer 6-molaren Natriumhydroxid-Lösung zu 0,125 mL EDTA-Plasma in einem 1,5 mL Eppendorf-Gefäß hinzugefügt

und bei 60° C in einem Eppendorf-Erhitzer für 30 Minuten inkubiert. Die hydrolysierte Probe wurde durch Zusatz von 62,5 µL 35% (v/v) Perchlorsäure deproteinisiert. Nach Zentrifugation (14000 g für 2 Minuten) wurden 125 µL des Überstandes mit 12,5 µL 2,4-Dinitrophenylhydrazin (DNPH) vermischt und für 10 Minuten inkubiert. Die so verarbeiteten Proben, mehrere derivatisierte MDA-Standard-Lösungen (0.625 nmol/mL – 10 nmol/mL) sowie Blindproben wurden dem HPLC-System zugeführt. Für die Standards wurden 25 µL TMP (1,1,3,3-Tetramethoxypropan) in 100 mL doppelt destilliertem Wasser gelöst (Stammlösung mit 1 mmol/L). Die Hydrolyse erfolgte durch Beigabe von 200 µL der TMP-Stammlösung zu 10 mL 1-prozentiger Schwefelsäure und anschließender Inkubation für eine Stunde bei Raumtemperatur. Der dadurch entstehende MDA-Standard von 20 nmol/mL wurde mit 1-prozentiger Schwefelsäure auf die endgültigen Standardkonzentrationen verdünnt.

Die isokratische Auftrennung der einzelnen durch DNPH entstandenen Hydrazone erfolgte mittels HPLC über eine 5-µm ODS Hypersil-Säule (150 x 4,6 mm) mit einer vorgeschalteten 5-µm ODS Hypersil-Säule (10 x 4,6 mm, Uniguard holder). Die mobile Phase bestand aus 0,2-prozentiger Essigsäurelösung (v/v) (bidestilliertes Wasser) mit 50 % Acetonitril (v/v). Die HPLC-Trennung erfolgte mit einem L-2200 Autosampler, einer L-2130 HTA-Pumpe und einem L-2450 Diodenarraydetektor (alle von VWR Hitachi Wien, Österreich). Die Detektor-Signale (Extinktion bei 310 nm) wurden aufgezeichnet und mit dem Program EZChrom Elite (VWR) erfolgte die Datenermittlung und Analyse. Die Chromatogramme eines Standards und einer Plasmaprobe sind in Abbildung 15 dargestellt. Zur quantitativen Auswertung wurden die Peakhöhen herangezogen. Aus den Peakhöhen der Standard-Chromatogramme wurde eine Standardkurve erstellt, mit deren Hilfe die Konzentrationen der Proben berechnet wurden.

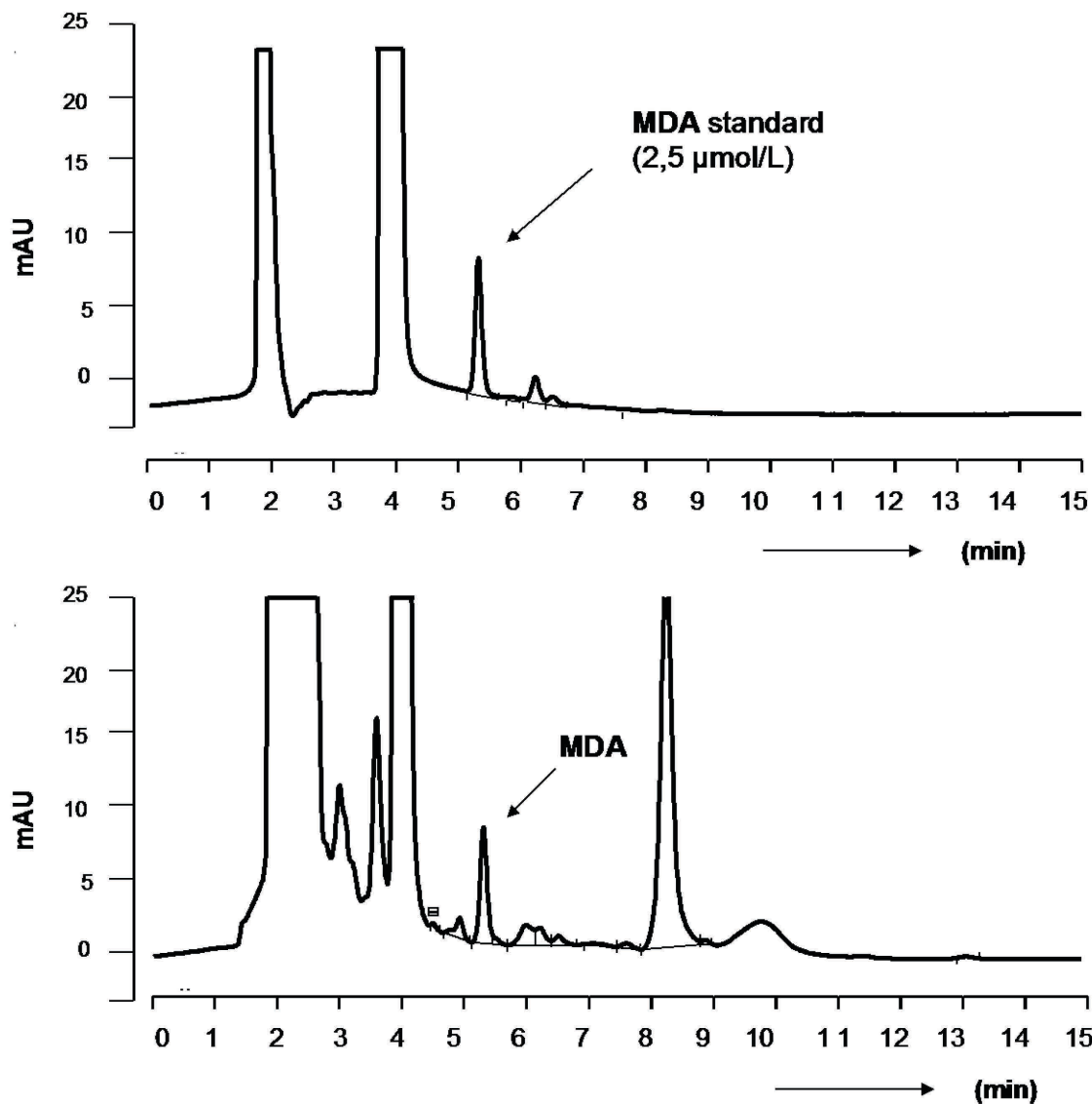


Abbildung 15: Chromatogramme zur Bestimmung von MDA. Die Abbildung zeigt oben das Chromatogramm eines MDA-Standards und unten jenes einer Plasmaprobe.

3.5. Bestimmung der klinisch-chemischen Laborwerte und des Blutbildes

Das Li-Heparin-Blut für die Messwerte der klinischen Chemie wurden an das Klinische Institut für Medizinische und Chemische Labordiagnostik des Universitätsklinikums Graz (KIMCL) gesendet und dort nach Routineverfahren analysiert. Das Blutbild wurde aus EDTA-Blut am Institut für Physiologische Chemie in Graz angefertigt (Sysmex KX-21N Automatischer Hämatologie-Analysator).

4. Ergebnisse

Nach Ende der Analysen konnten die Messwerte von 21 Probanden und Probandinnen in die Auswertung miteinbezogen werden. Die anderen 13 Versuchspersonen mussten den Versuch entweder abbrechen, oder sie waren in jenem Versuchsdurchlauf, welcher nicht auswertbar war, weil die Zielhöhe durch eine technische Sicherheitseinrichtung nicht durchgehend gehalten werden konnte. Von den eingeschlossenen Probanden und Probandinnen waren 14 männlich und 7 weiblich.

4.1. Veränderungen der Albuminfraktionen

4.1.1. Änderungen des HMA

Die Hauptzielgröße der Arbeit war die Veränderung der Verteilung der einzelnen Albuminfraktionen. Die HMA-Fraktion verringerte sich im Mittel statistisch signifikant von 80,7% auf 79,0%. Das bedeutet eine absolute Verringerung um 1,6% und das entspricht einer relativen Verringerung um 2,0% ($p = 0,003$). Hierbei gibt es keine signifikanten Unterschieden zwischen den Geschlechtern (Mittlere Änderung $m = -0,014$; $w = -0,021$; $p = 0,558$). Der Median der erhobenen HMA-Anteile lag vor der Hypoxieexposition bei 80,3% und nach dem Aufenthalt in der Höhenkammer bei 78,3%. Betrachtet man allerdings den HMA-Abfall bei den Männern separat so ist dieser nicht statistisch signifikant ($p = 0,077$), anders als bei den Frauen ($p = 0,003$). Insgesamt kam es bei 16 Teilnehmern und Teilnehmerinnen zu einer Verringerung und bei 5 Versuchspersonen zu einem Anstieg der HMA-Fraktion. Die Veränderungen von HMA sind in Tabelle 2 aufgelistet und in Abbildung 16 und Abbildung 17 grafisch dargestellt.

ProbandIn	HMA-Anteil vorher	HMA-Anteil nachher	Änderung
1	80,2%	80,5%	0,4%
3	74,2%	74,3%	0,0%
4	79,6%	75,0%	-4,5%
5	77,2%	75,2%	-2,0%
13	82,3%	78,9%	-3,5%
14	79,9%	77,8%	-2,1%
15	76,7%	80,6%	3,8%
16	80,7%	75,2%	-5,5%
17	86,3%	83,1%	-3,2%
18	82,1%	84,9%	2,8%
19	80,3%	78,6%	-1,8%
20	79,5%	76,9%	-2,6%
21	83,1%	82,7%	-0,4%
22	78,5%	76,8%	-1,7%
24	82,4%	80,7%	-1,8%
25	80,2%	77,1%	-3,1%
26	79,7%	78,3%	-1,4%
27	80,7%	77,7%	-3,0%
28	82,1%	83,4%	1,3%
31	86,2%	83,8%	-2,4%
33	81,6%	77,9%	-3,7%

Tabelle 2: Änderungen der HMA-Fraktion bei den einzelnen eingeschlossenen Probanden und Probandinnen.

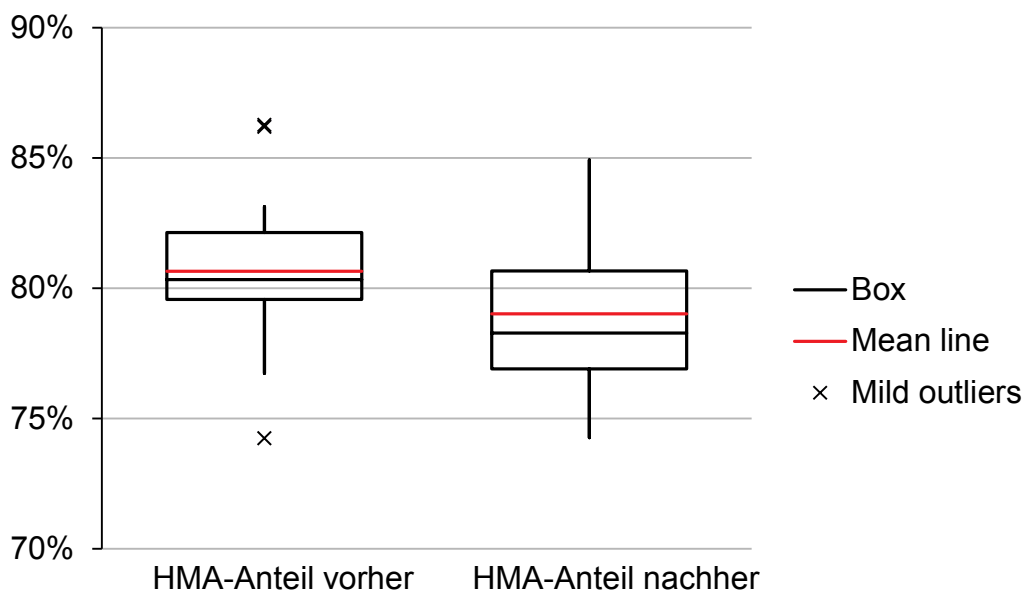


Abbildung 16: Boxplot des HMA-Anteils vor und nach der Hypoxie-Exposition.

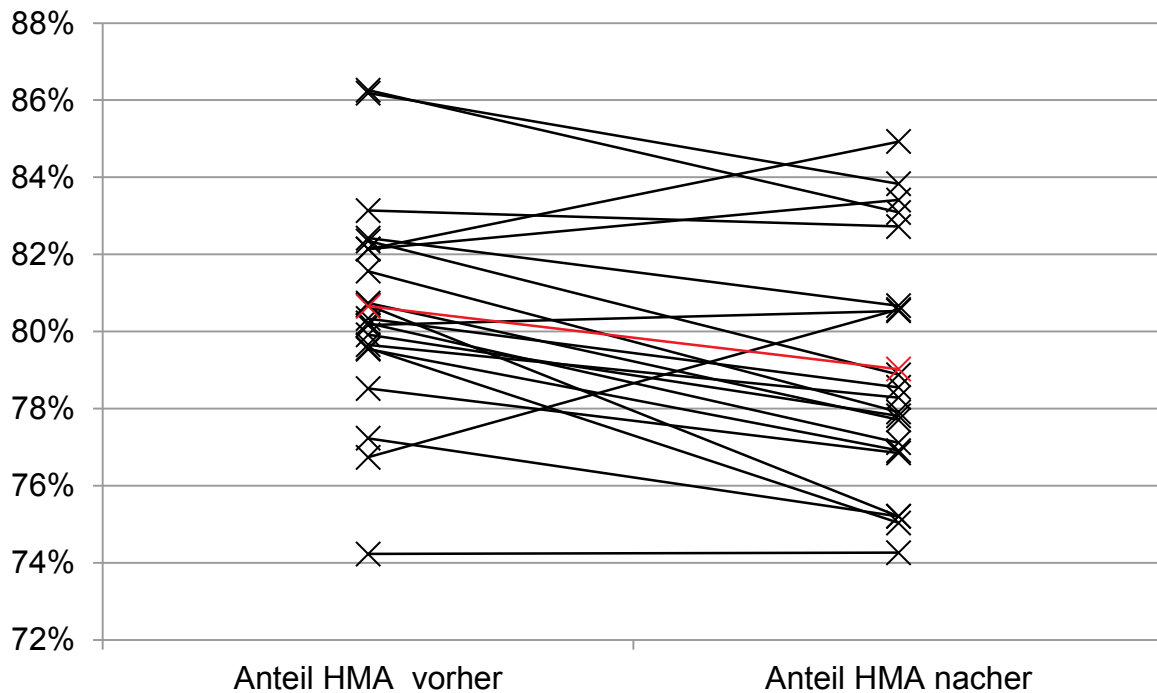


Abbildung 17: Die Veränderungen des HMA-Anteils bei den einzelnen eingeschlossenen Probanden und Probandinnen. Der Mittelwert ist rot dargestellt.

4.1.2. Änderungen des HNA-1

Das HNA-1 hingegen stieg im Durchschnitt etwa in dem gleichen Maß an, wie das HMA sank. Im Mittel betrug die HNA-1-Fraktion vor dem Versuch 17,5% und nach der Hypoxieexposition 19,0%. Somit beträgt der absolute Anstieg 1,4%, was einem relativen Anstieg von 8,1% entspricht ($p = 0,011$). Der Median der erhobenen HNA-1-Anteile stieg von 17,6% vor der Hypoxieexposition auf 19,1% danach. Es findet sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Geschlechtern (Mittlerer HNA-1-Anstieg $m = 0,012$; $w = 0,018$; $p = 0,65$). Auch hier ist der Anstieg separat auf die Männer bezogen nicht statistisch signifikant ($p = 0,123$), bei den Frauen hingegen schon ($p = 0,013$). Gegenläufig zur Situation bei der HMA-Fraktion kam es bei 16 der Probanden und Probandinnen zu einem Anstieg und bei 5 Versuchspersonen zu einem Absinken der HNA-1-Fraktion. Die Veränderungen von HNA-1 sind in Tabelle 3 zusammengefasst und in Abbildung 18 grafisch dargestellt.

Die Änderungen von HMA korrelieren statistisch signifikant mit den Änderungen von HNA-1 indirekt ($r = -0,94$, $p = 0,00$).

ProbandIn	HNA-1-Anteil vorher	HNA-1-Anteil nachher	Änderung
1	17,6%	17,2%	-0,3%
3	20,4%	21,9%	1,6%
4	19,4%	23,6%	4,2%
5	20,0%	21,7%	1,7%
13	16,2%	19,1%	2,8%
14	18,5%	20,2%	1,7%
15	21,9%	18,4%	-3,5%
16	16,3%	23,4%	7,1%
17	12,2%	15,0%	2,8%
18	15,9%	13,1%	-2,7%
19	18,7%	19,8%	1,1%
20	18,8%	21,4%	2,5%
21	15,7%	15,4%	-0,3%
22	19,3%	21,2%	2,0%
24	16,4%	16,5%	0,2%
25	17,4%	20,2%	2,8%
26	17,1%	18,2%	1,1%
27	18,0%	19,1%	1,1%
28	16,7%	15,0%	-1,7%
31	13,6%	15,5%	1,9%
33	18,2%	22,1%	3,8%

Tabelle 3: Änderungen der HNA-1-Fraktion bei den einzelnen eingeschlossenen Probanden und Probandinnen.

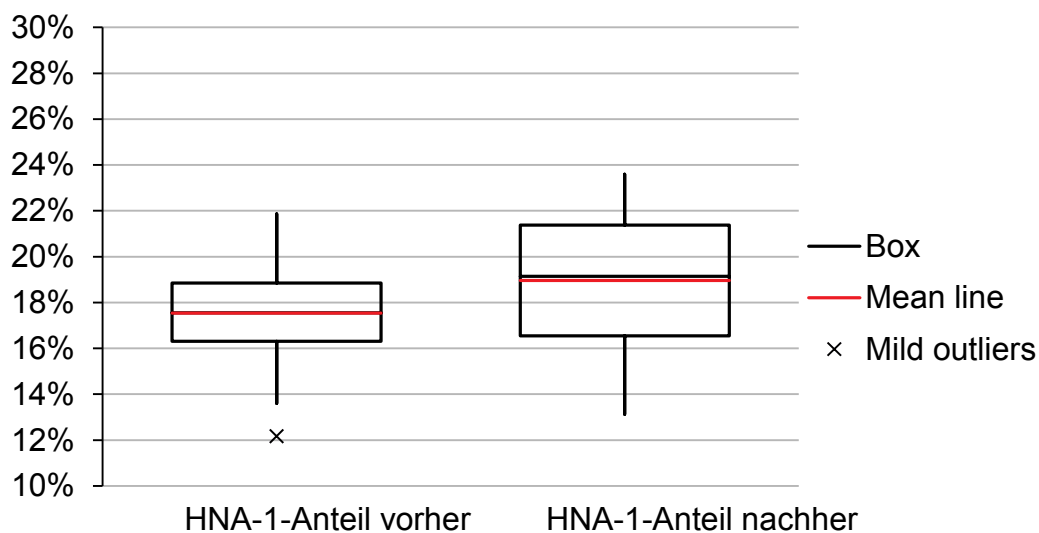


Abbildung 18: Boxplot des HNA-1-Anteils vor und nach der Hypoxie-Exposition.

4.1.3. Änderungen des HNA-2

Der Anteil von HNA-2 war bei allen Probanden und Probandinnen sehr gering. Bei so kleinen Anteilen unterliegt die verwendete Messmethode bereits einem beträchtlichen Fehler, sodass die gemessenen Ergebnisse nur mit Vorbehalt betrachtet werden sollten. Vor dem Versuch war der Anteil von HNA-2 im Durchschnitt 1,8%. Nach der Höhenexposition betrug er im Mittel 2,0%. Das ist eine absolute Steigerung von 0,2% und das entspricht einem relativen Anstieg von 11,6%. Dieser hohe relative Anstieg ist zum überwiegenden Teil dem nur geringen Ausgangswert von HNA-2 geschuldet und kann auch durch den bei diesen geringen Absolutwerten großen Messfehler hervorgerufen werden. Der Anstieg von HNA-2 ist als statistisch nicht signifikant anzusehen ($p = 0,247$). Der Median der gemessenen HNA-2-Fractionen stieg von 1,6% vor der Hypoxieexposition auf 1,9% danach. Es gibt keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Geschlechtern. Die Veränderungen des HNA-2-Anteils sind in Abbildung 19 dargestellt.

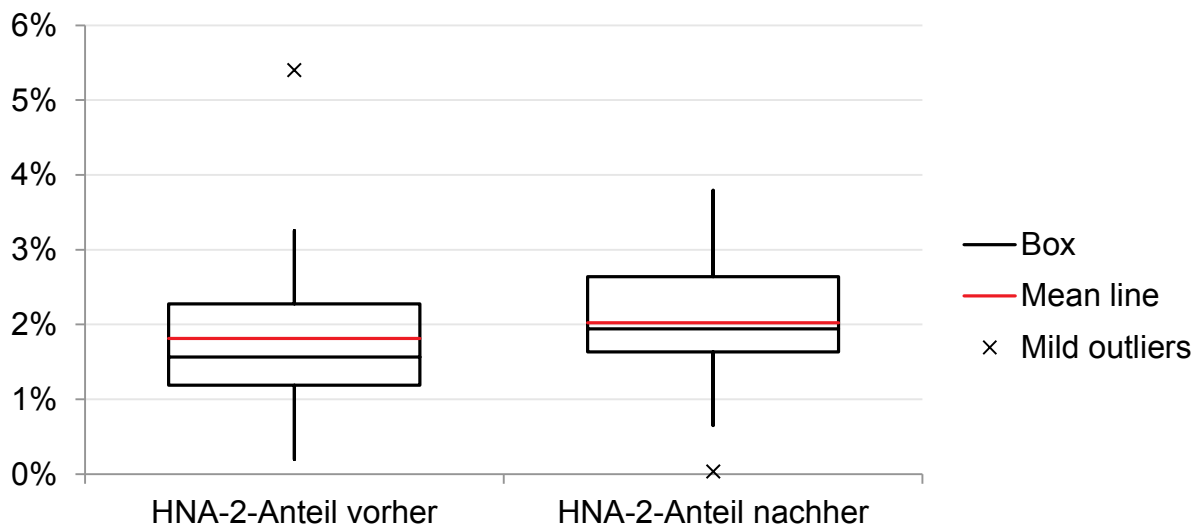


Abbildung 19: Boxplot des HNA-2-Anteils vor und nach der Hypoxie-Exposition.

4.2. Veränderungen von MDA, Blutbild und Sauerstoffsättigung

4.2.1. Malondialdehyd

Als weiterer Indikator für oxidativen Stress wurde Malondialdehyd bestimmt. Hier kam es im Mittel zu einem Anstieg von 0,1 nmol/mL von 1,4 nmol/mL auf 1,5 nmol/mL (Abbildung 20). Dieser Anstieg ist als nicht signifikant zu werten ($p = 0,186$). Auch die Verteilung des Anstiegs zeigt ein inhomogenes Bild. Nur bei 12 der 21 Probanden und Probandinnen kam es zu einem Anstieg, in 8 Fällen nahm der Malondialdehydgehalt sogar ab und in einem Fall blieb es gänzlich unverändert. Es gibt auch keine relevanten Unterschiede zwischen den Geschlechtern.

ProbandIn	MDA vor {nmol/mL}	MDA nach {nmol/mL}	Änderung {nmol/mL}
1	1,2	1,1	-0,1
3	1,8	1,9	0,1
4	1,3	2,1	0,7
5	1,5	1,6	0,0
13	1,2	2,6	1,3
14	1,8	1,2	-0,6
15	1,4	1,2	-0,2
16	1,0	1,1	0,1
17	1,3	1,6	0,2
18	1,4	1,1	-0,3
19	1,1	2,2	1,1
20	1,1	1,1	-0,1
21	1,4	1,9	0,5
22	1,0	1,2	0,2
24	1,7	1,3	-0,4
25	1,3	1,8	0,5
26	1,4	1,2	-0,2
27	1,1	1,5	0,3
28	1,4	1,4	0,0
31	1,4	1,6	0,3
33	2,1	1,5	-0,6

Tabelle 4: Änderungen des MDA bei den einzelnen eingeschlossenen Probanden und Probandinnen.

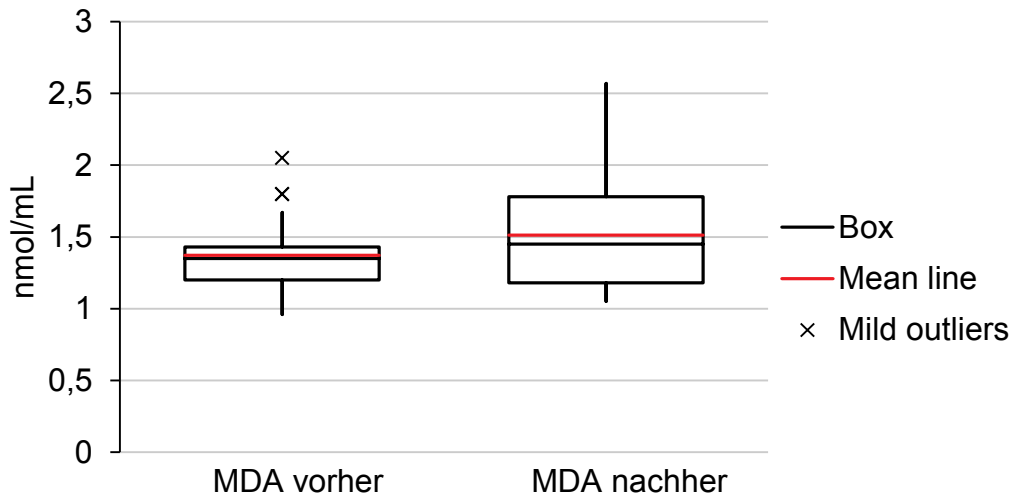


Abbildung 20: Boxplot des MDA-Wertes vor und nach Hypoxie-Exposition.

Interessant ist, dass sich jene vier Probanden und Probandinnen bei denen der Anteil des HMA im Laufe des Versuches nicht sank sondern stieg, unter jenen 9 Versuchspersonen befinden, bei denen der MDA im gleichen Zeitraum abfiel oder gleich blieb. Ein Proband, bei dem der HMA-Anteil unverändert blieb, zeigte zudem einen nur minimalen MDA-Anstieg von 0,05 nmol/mL (Abbildung 21).

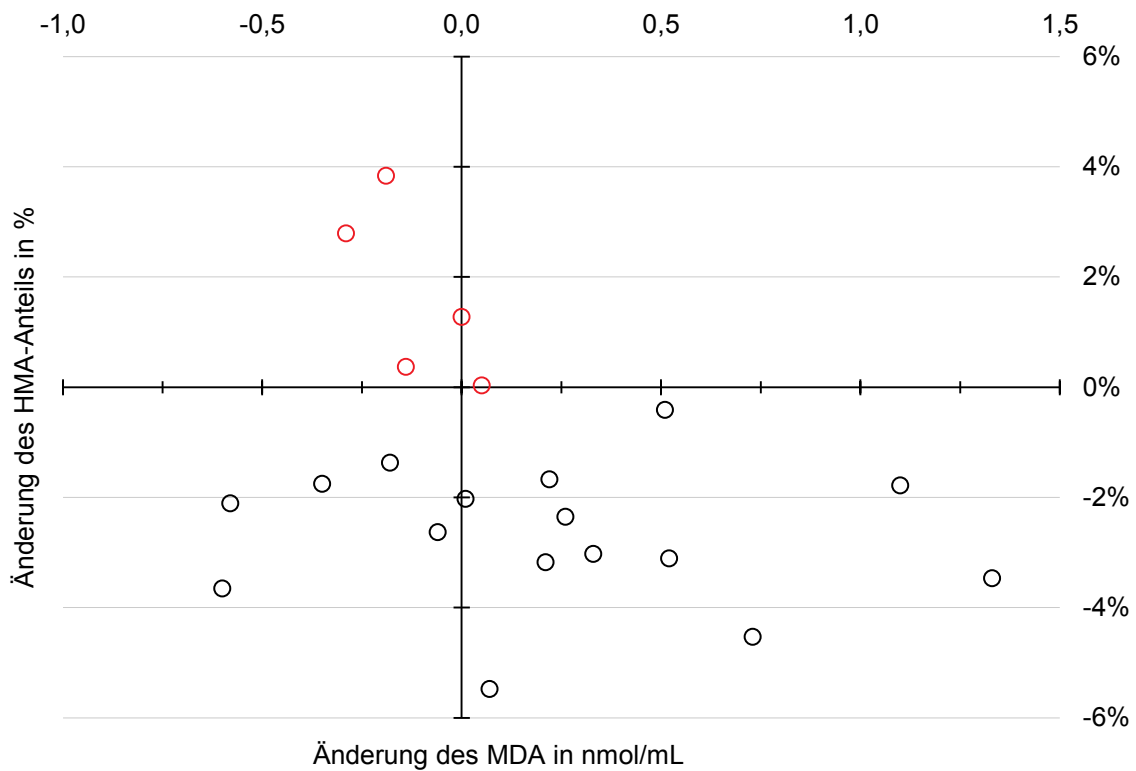


Abbildung 21: Vergleich der einzelnen Probanden und Probandinnen im Hinblick auf die Änderung des HMA-Anteils und die Änderung des MDA. Jene Versuchspersonen bei denen der HMA-Wert stieg sind rot dargestellt.

Die Veränderungen der MDA-Konzentrationen sind bei den einzelnen Versuchspersonen sehr unterschiedlich. Sie reichen von + 1,3 nmol/mL und – 0,6 nmol/mL. Auch die relativen Veränderungen zeigen eine starke interindividuelle Streuung. Bei 19 der 21 Probanden und Probandinnen bewegt sich diese in einem Bereich von + 54,9% und – 32,2%. Bei zwei Probanden und Probandinnen hingegen wurde der Ausgangswert der MDA-Konzentration mehr als verdoppelt. Die absolute und relative Veränderung der MDA-Werte bei den einzelnen Versuchspersonen sind in Abbildung 22 dargestellt.

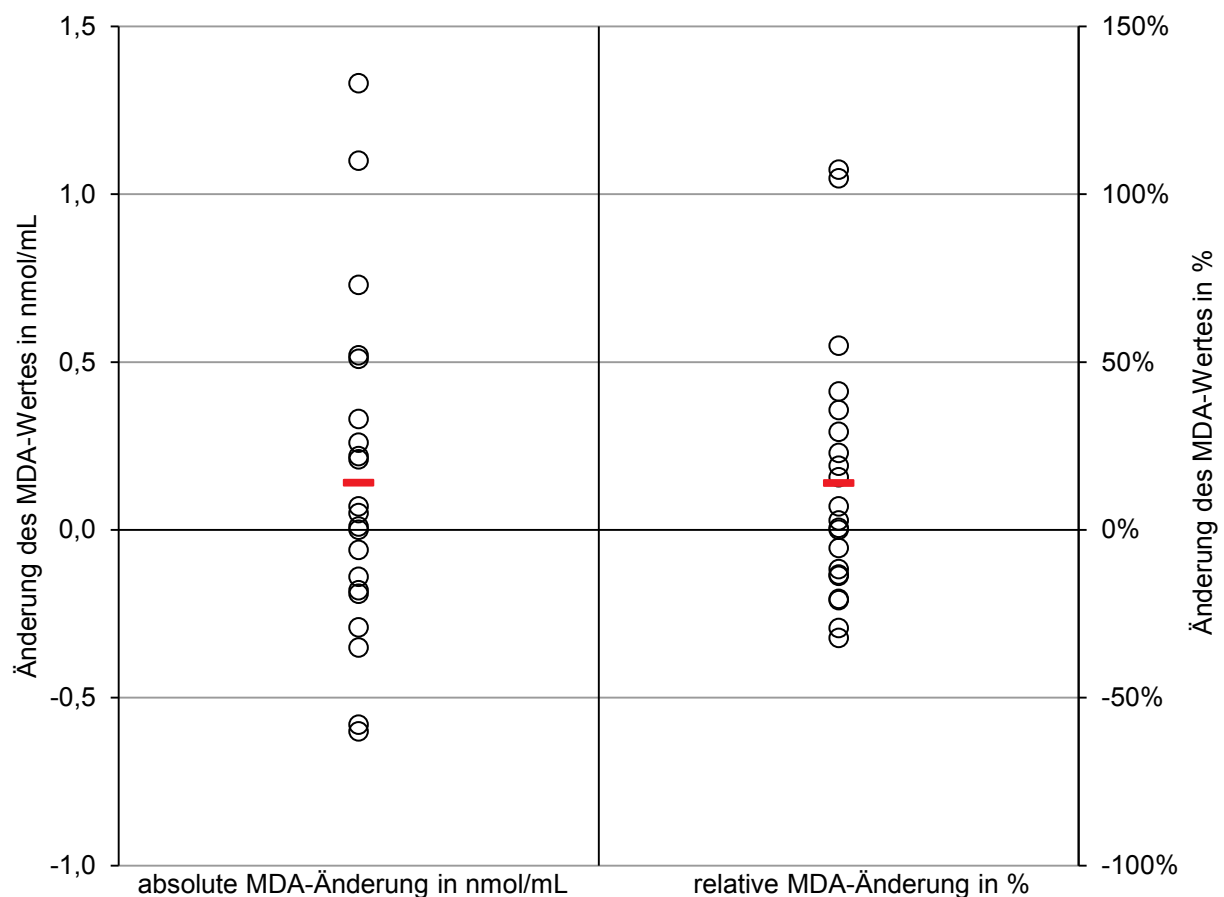


Abbildung 22: Die absolute und relative Änderung der MDA-Konzentrationen bei den einzelnen Versuchspersonen während der Hypoxie. Die Mittelwerte sind in rot dargestellt.

4.2.2. Pulsoxymetrische Sauerstoffsättigung

Im Zuge des Versuchs wurde jede Stunde in der Hypoxiekammer photometrisch mit einem Finger-Pulsoxymeter die Sauerstoffsättigung des Blutes (SpO_2) bestimmt. Durchschnittlich lagen die SpO_2 -Werte nach 1, 2 und 3 Stunden in der Kammer bei 78,4%, 78,6% sowie 79,8%. Bei der ersten Messung vor Betreten der Kammer lag

der Durchschnitts-SpO₂ bei 98,1% (Abbildung 23). Die genaue Begutachtung der individuellen Werte der Probanden und Probandinnen scheint aufgrund der eingeschränkten Präzision der Finger-Pulsoxymetrie als nicht zielführend. Allerdings zeigen die Durchschnittswerte plausible Dimensionen, welche hier als gute Näherung auf das tatsächliche Verhalten der Sauerstoffsättigung herangezogen werden. Es gibt keine signifikanten Unterschiede zwischen den Geschlechtern ($p = 0,607$).

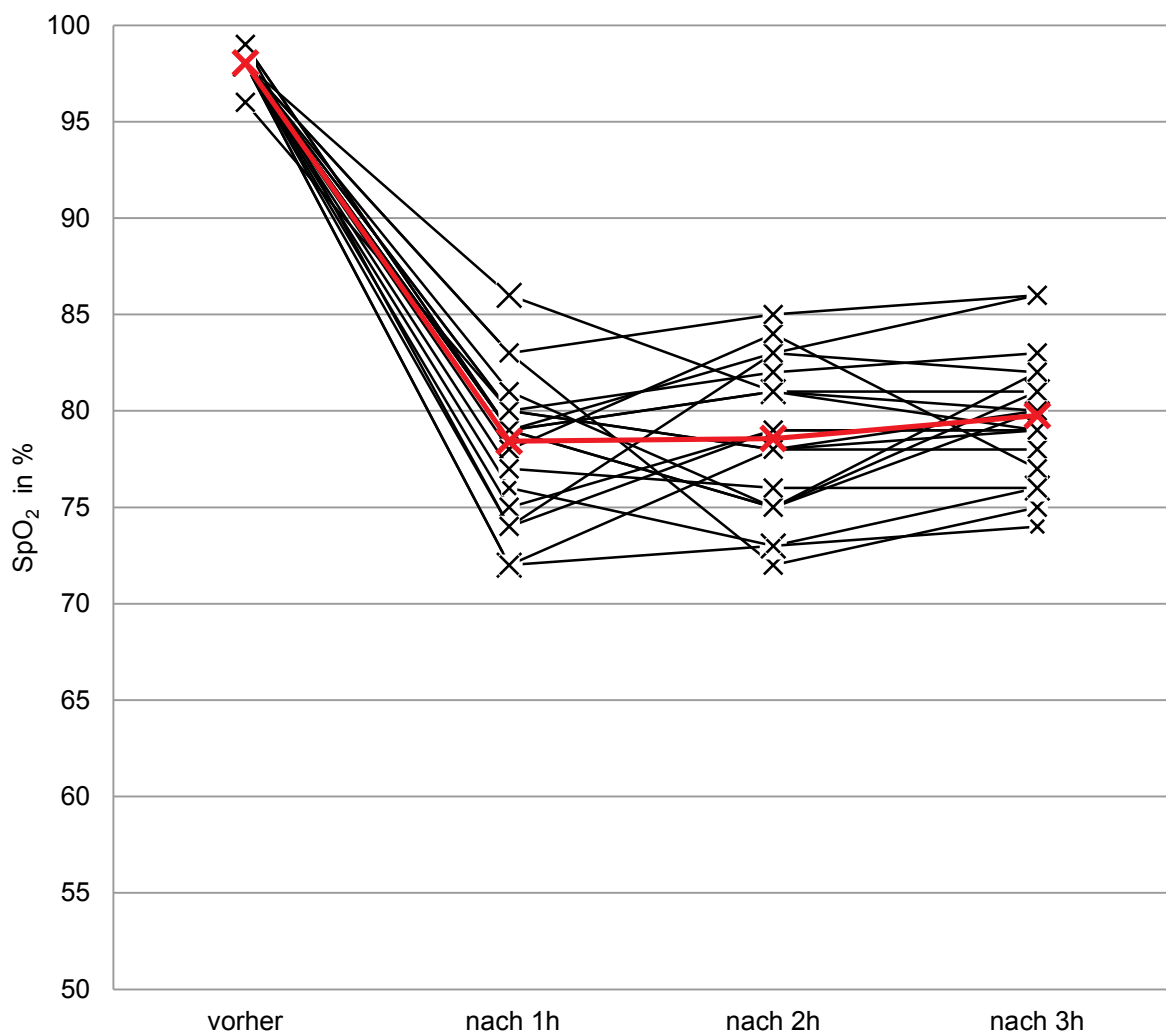


Abbildung 23: Verlauf der photometrischen Sauerstoffsättigung über den Zeitraum der Hypoxie-Exposition bei den einzelnen Probanden und Probandinnen. Der Mittelwert ist in rot dargestellt.

4.2.3. Leukozytenzahl

Als unspezifischer Marker für eine Stressreaktion wurden weiters die Leukozyten aus dem Blutbild sowohl vor Betreten der Kammer als auch nach Exposition bestimmt. Im Durchschnitt kam es zu einem Anstieg der Leukozyten von $6,2 \times 10^3/\mu\text{L}$ auf $7,4 \times 10^3/\mu\text{L}$. Das ist ein absoluter Anstieg von $1,2 \times 10^3/\mu\text{L}$ und das entspricht einer relativen Steigerung um 18,6%. Diese Steigerung ist signifikant ($p = 0,002$). Bei diesen Werten kam es zu einer deutlichen Differenz zwischen den Geschlechtern. Während der Anstieg bei den männlichen Probanden deutlich ersichtlich war, ist dieser bei den teilnehmenden Frauen nicht erkennbar. Der Anstieg bei den Männern betrug im Durchschnitt $1,8 \times 10^3/\mu\text{L}$. Bei den Frauen kam es im Durchschnitt sogar zu einer minimalen Abnahme der Leukozyten um $0,1 \times 10^3/\mu\text{L}$ (Abbildung 24). Dieser Unterschied ist als statistisch signifikant anzusehen ($p = 0,007$).

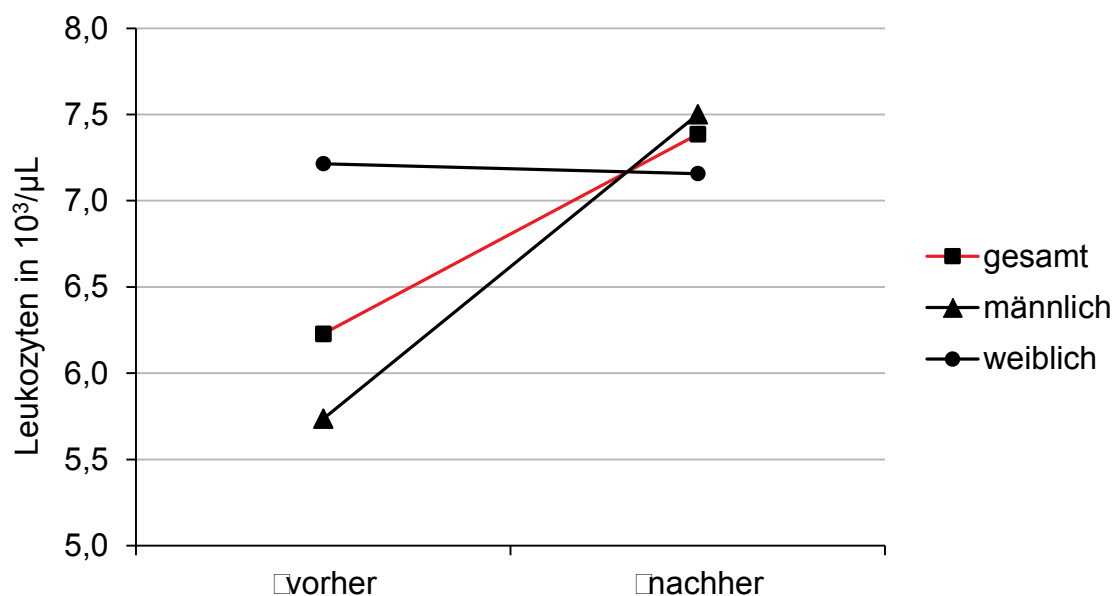


Abbildung 24: Änderungen der Mittelwerte der Leukozytenzahl während der Hypoxie-Exposition gesamt und nach Geschlecht.

Die individuelle Streuung ist allerdings beträchtlich. Die Änderungen bei den Leukozyten liegen bei den Männern zwischen $-0,5 \times 10^3/\mu\text{L}$ und $+4,3 \times 10^3/\mu\text{L}$. Bei den Frauen liegen die Änderungen zwischen $-1,4 \times 10^3/\mu\text{L}$ und $+1,5 \times 10^3/\mu\text{L}$ (Abbildung 25).

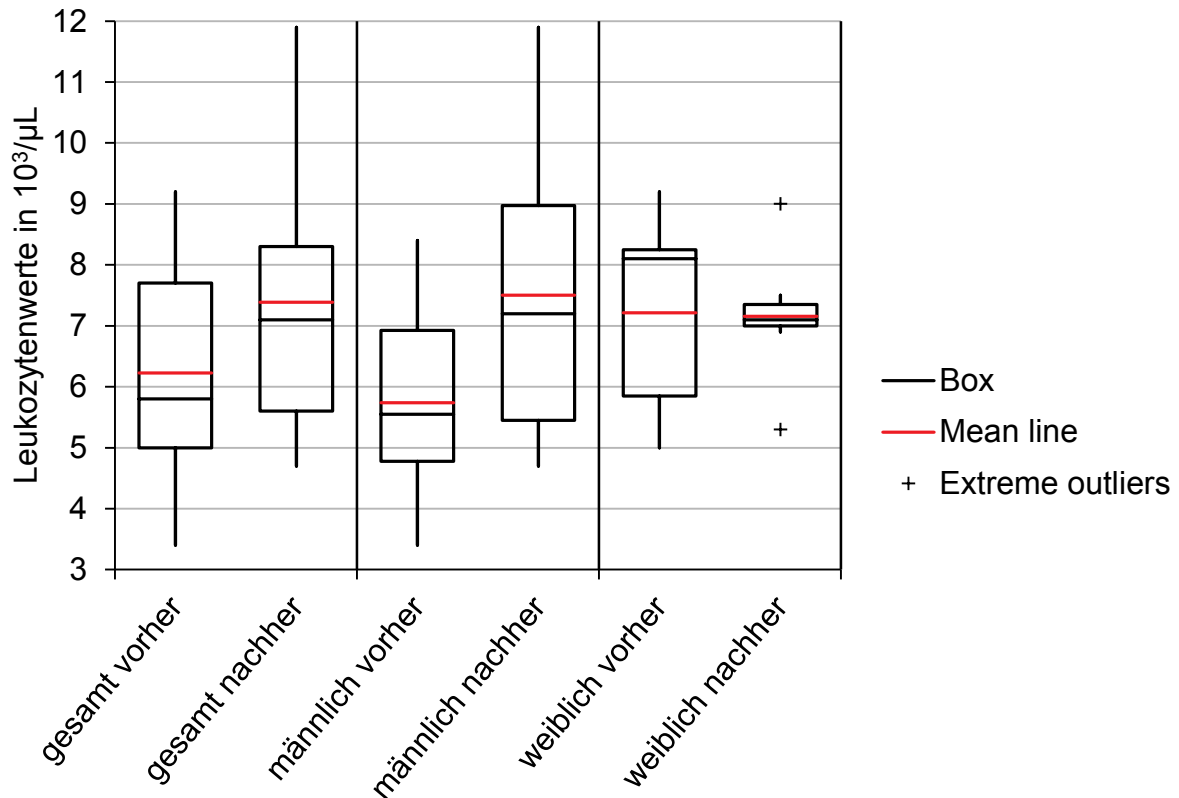


Abbildung 25: Übersicht über die Leukozytenwerte vor und nach der Hypoxie-Exposition gesamt und nach Geschlecht.

Die durchschnittliche Leukozytenanzahl vor dem Versuch betrug bei den Männern $5,7 \times 10^3/\mu\text{L}$ und bei den Frauen $7,2 \times 10^3/\mu\text{L}$. Dieser Unterschied bei den Leukozyten zwischen den Geschlechtern ist statistisch signifikant ($p = 0,047$). Nach der Hypoxie-Exposition betrug die Leukozytenanzahl bei den Männern $7,5 \times 10^3/\mu\text{L}$ und bei den Frauen $7,2 \times 10^3/\mu\text{L}$. Durch die deutliche Zunahme bei den Männern ist der Unterschied bei den Geschlechtern nicht mehr statistisch signifikant ($p = 0,71$).

4.3. Zusätzliche Korrelationsanalysen

4.3.1. Auffällige Korrelationen

Im Zuge der statistischen Aufarbeitung wurden zahlreiche Korrelationsanalysen durchgeführt. Dabei fanden sich zahlreiche statistisch signifikante Auffälligkeiten. Viele Korrelationen zeigten sich zwischen Blutbild-Variablen. Diese sind im Anhang angeführt und werden an dieser Stelle nicht diskutiert. Bei vielen Korrelationen handelt es sich auch um triviale Zusammenhänge wie etwa zwischen dem

Hämoglobin und dem Erythrozytenwert vor der Exposition ($r = 0,53$; $p = 0,014$). Diese werde hier nicht diskutiert. Andere Zusammenhänge sind auf physiologische Unterschiede zwischen den Geschlechtern zurückzuführen. So gibt es, wie oben erwähnt, einen deutlichen Geschlechterunterschied bei der Leukozytenänderung. Der Hämatokrit ist physiologischerweise bei Männern häufig höher als bei Frauen. Dadurch zeigt sich auch ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen dem Hämatokrit vor der Exposition und der Leukozytenänderung ($r = 0,49$; $p = 0,024$). Die zahlreichen Korrelationen, die beim Vergleich von Blutbild und klinischer Chemie gefunden wurden, haben keine Relevanz für das Thema dieser Arbeit und werden daher auch nicht diskutiert. Im Anhang befindet sich eine vollständige Auflistung aller durchgeführten Korrelationsanalysen.

Auch bei Regressionsanalysen der anderen Messwerte wurden viele miteinander korrelierende Variablen gefunden. Bei der folgenden Diskussion werden daher nur Korrelationen besprochen, die einen Korrelationskoeffizient größer 0,5 beziehungsweise größer $- 0,5$ aufweisen und zugleich einen p-Wert kleiner 0,05 haben. Die Korrelationen zwischen der Leukozytenänderung und den Änderungen der Sauerstoffsättigung nach 2 und 3 Stunden bilden hierbei eine Ausnahme, weil der Korrelationskoeffizient jeweils bei 0,44 liegt. Jedoch scheinen diese Zusammenhänge relevant zu sein und werden daher an dieser Stelle ebenfalls besprochen. Die hier angeführten Korrelationen sind in Tabelle 5 übersichtlich abgebildet.

Korrelationen zeigen sich auch zwischen verschiedenen Sauerstoffsättigungswerten und den Leukozytenwerten und den MDA-Werten. Die Leukozytenänderung korreliert indirekt mit der SpO_2 -Differenz zum Ausgangswert nach 2 h ($r = - 0,44$; $p = 0,044$; vergleiche Abbildung 26) und nach 3 h ($r = - 0,44$; $p = 0,046$). Zudem gibt es einen statistisch signifikanten indirekten Zusammenhang der SpO_2 nach 2 h und dem MDA-Wert nach Exposition ($r = - 0,58$; $p = 0,006$) und der MDA-Differenz ($r = - 0,52$; $p = 0,015$). Zu diesen Werten zeigen sich auch indirekte signifikante Korrelationen mit der SpO_2 -Differenz zum Ausgangswert nach 2 h.

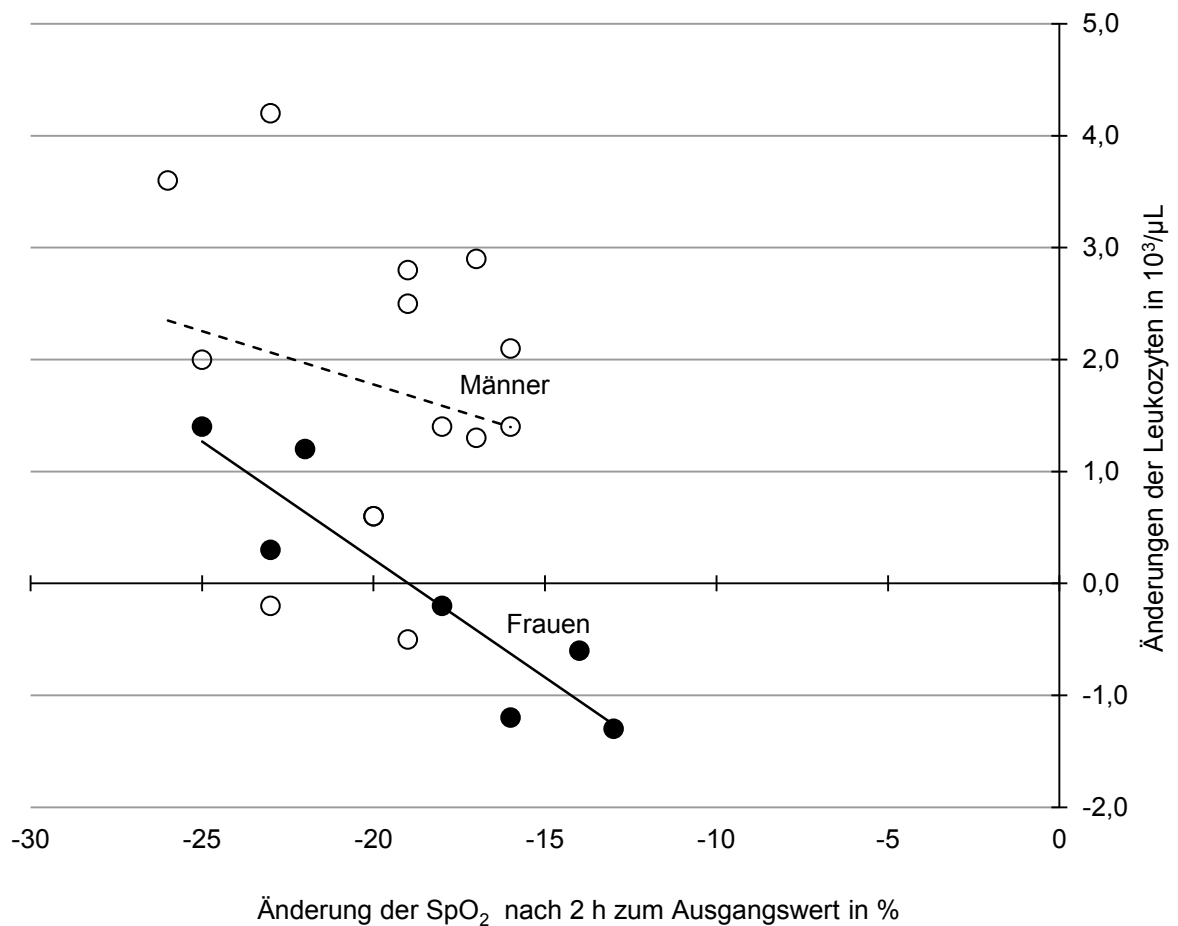


Abbildung 26: Vergleich der SpO₂-Differenz nach 2 h zum Ausgangswert und der Änderung der Leukozyten während der Hypoxie-Exposition. Die leeren Kreise beschreiben die Werte von Männern, die gefüllten jene der Frauen. Für beide Geschlechter wurde je eine Regressionsgerade (Männer strichliert, Frauen durchgezogen) eingefügt.

Auffällige Korrelationen zeigen sich auch zwischen der AST und der MDA-Konzentration nach dem Versuch ($r = 0,67$; $p = 0,001$), sowie mit der MDA-Änderung während der Exposition ($r = 0,62$; $p = 0,003$). Die Ursachen dieser Korrelationen sind unklar. Ebenso verhält es sich mit der indirekten Korrelation der MDA-Konzentration vor der Exposition und der Änderung des MDA-Wertes während des Versuches ($r = -0,55$; $p = 0,011$).

Variable a	Variable b	Korrelations-	
		koeffizient r	p-Wert
SpO2-Differenz 0/2 h	Leukozytenänderung	-0,44	0,044
SpO2-Differenz 0/3 h	Leukozytenänderung	-0,44	0,065
SpO2 nach 2 h	MDA nachher	-0,58	0,006
SpO2 nach 2 h	MDA-Änderung	-0,52	0,015
MDA vorher	MDA-Änderung	-0,55	0,011
SpO2-Differenz 0/2 h	MDA nachher	-0,60	0,004
SpO2-Differenz 0/2 h	MDA-Änderung	-0,52	0,015
AST	MDA nachher	0,67	0,001
AST	MDA-Änderung	0,62	0,003

Tabelle 5: Auflistung der relevanten und signifikanten Korrelationen der Meßwerte.

4.3.2. Unterschiede zwischen den Geschlechtern

Die oben beschriebenen Korrelationen wurden auch geschlechterspezifisch betrachtet, wobei sich zum Teil deutliche Unterschiede zeigten. Diese Daten sind in Tabelle 6 und Tabelle 7 dargestellt. Die Korrelationen zwischen den Änderungen der Sauerstoffsättigung und den Leukozytenänderungen sind nur bei den Frauen statistisch signifikant, während sich bei den Männern kein statistischer Zusammenhang zeigt. Die Korrelation dieser Werte bei den Frauen, ist sehr deutlich ausgeprägt. Der Korrelationskoeffizient zwischen der Sauerstoffsättigungsdifferenz nach 2 Stunden und der Leukozytendifferenz weist bei den Frauen den Wert – 0,91 ($p = 0,004$) auf. Dieser Zusammenhang ist in Abbildung 26 dargestellt. Bei Korrelation mit der Sauerstoffsättigungsdifferenz nach 3 Stunden und der Leukozytendifferenz verhält es sich bei den Frauen ähnlich ($r = - 0,69$; $p = 0,011$). Bei den Männern liegen diese Korrelationen deutlich außerhalb der Signifikanzgrenze.

Anders verhält es sich mit den Zusammenhängen zwischen der Sauerstoffsättigung nach 2 Stunden und der MDA-Konzentration nach Exposition und der MDA-Änderung. Diese Korrelationen sind nur bei den Männern statistisch signifikant ($p = 0,009$ und $p = 0,003$), während diese bei den Frauen deutlich außerhalb der Signifikanzgrenze liegen. Diese Beobachtung trifft auch auf die Korrelationen der Sauerstoffdifferenz nach 2 Stunden mit der MDA-Konzentration nach Exposition und der MDA-Änderung zu.

Bei der signifikanten Korrelation zwischen der MDA-Konzentration nach Exposition und der MDA-Änderung ist auffällig, dass diese bei geschlechterspezifischer Betrachtung bei beiden Geschlechtern als nicht signifikant zu werten sind. Bei der Korrelation der AST mit der MDA-Änderung ist diese nur bei den Frauen signifikant ($p = 0,037$) und liegt bei den Männern knapp außerhalb der Signifikanzgrenze ($p = 0,053$).

Variable a	Variable b	Korrelations-	
		koeffizient r	p-Wert
SpO2-Differenz 0/2 h	Leukozytenänderung	-0,22	0,441
SpO2-Differenz 0/3 h	Leukozytenänderung	-0,35	0,218
SpO2 nach 2 h	MDA nachher	-0,67	0,009
SpO2 nach 2 h	MDA-Änderung	-0,72	0,004
MDA vorher	MDA-Änderung	-0,43	0,128
SpO2-Differenz 0/2 h	MDA nachher	-0,67	0,009
SpO2-Differenz 0/2 h	MDA-Änderung	-0,73	0,003
AST	MDA nachher	0,64	0,013
AST	MDA-Änderung	0,53	0,053

Tabelle 6: Die oben erwähnten Korrelationen, berechnet aus den Meßwerten der **männlichen** Versuchspersonen.

Variable a	Variable b	Korrelations- koeffizient r	p-Wert
SpO2-Differenz 0/2 h	Leukozytenänderung	-0,91	0,004
SpO2-Differenz 0/3 h	Leukozytenänderung	-0,87	0,011
SpO2 nach 2 h	MDA nachher	-0,53	0,222
SpO2 nach 2 h	MDA-Änderung	-0,31	0,502
MDA vorher	MDA-Änderung	-0,72	0,063
SpO2-Differenz 0/2 h	MDA nachher	-0,62	0,139
SpO2-Differenz 0/2 h	MDA-Änderung	-0,31	0,502
AST	MDA nachher	0,77	0,045
AST	MDA-Änderung	0,78	0,037

Tabelle 7: Die oben erwähnten Korrelationen, berechnet aus den Meßwerten der **weiblichen** Versuchspersonen.

Die auffälligsten Geschlechterunterschiede gibt es, wie oben beschrieben, bei der Veränderung der Leukozytenwerte. Aber auch bei den Erythrozytenzahlen, dem Hämoglobin, dem Hämatokrit, dem mittleren zellulären Volumen, dem mittleren zellulären Hämoglobin, der mittleren zellulären Hämoglobinkonzentration und dem Kreatinin gibt es statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Geschlechtern. Diese werden allerdings bei diesen Labor- und Blutbildwerten als physiologisch angesehen und sind auch keine Zielgrößen dieser Pilotstudie. Sie werden daher in dieser Arbeit nicht weiter behandelt. Eine Übersicht über alle im Rahmen der Studie gemessenen Blutwerte befindet sich tabellarisch zusammengefasst im Anhang der vorliegenden Arbeit.

5. Diskussion

Am Institut für Physiologische Chemie der Medizinischen Universität Graz werden bereits seit vielen Jahren die Einflüsse auf die Oxidationsstufen des Albumins untersucht. Im Vorfeld zu der in dieser Arbeit beschriebenen Studie wurde an jenem Institut ein Vorversuch mit einer geringen Anzahl an freiwilligen Mitarbeitern und Mitarbeiterinnen des Instituts durchgeführt. Dabei zeigte sich, dass die Exposition zu Hypoxie in einer Hypoxiekammer zu beachtlichen Veränderungen des Albuminredoxzustandes führte. Um diese näher zu untersuchen, wurde im Rahmen dieser Diplomarbeit die hier beschriebene Pilotstudie geplant und durchgeführt.

5.1. Albumin als sensibler Marker für oxidative Belastungen

Trotz der nur kurzen Dauer der Hypoxie von vier Stunden zeigte sich, wie in den Ergebnissen beschrieben, eine signifikante Veränderung des Albumin-Redox-Zustandes am Cystein an Stelle 34. Die Veränderungen scheinen auf den ersten Blick gering zu sein, aber bezogen auf die hohe Plasmakonzentration von Albumin zeigt sich, dass die Auslenkung an diesem bedeutenden Redox-„Puffer“ von beträchtlichem Ausmaß ist. Bei den Versuchsteilnehmern wurde vor dem Versuch eine Albuminkonzentration von 4,9 g/dL gemessen. Das entspricht 737 $\mu\text{mol/L}$. Eine Absenkung des HMA-Anteils um 1,6% bedeutet in Konzentrationen betrachtet eine Änderung um 12 $\mu\text{mol/L}$. Berechnet man den HNA-Anstieg von 1,4% so entspricht das immerhin einer Konzentrationsänderung von 11 $\mu\text{mol/L}$. Glutathion liegt etwa nur in einer Plasmakonzentration von 5 bis 7 $\mu\text{mol/L}$ vor. Die Änderung liegt auch im Bereich der Konzentration von vielen anderen Antioxidantien im Plasma. So finden sich etwa die reduzierten niedermolekularen plasmatischen Thiole in einem Konzentrationsbereich von 12 - 20 $\mu\text{mol/L}$ (31). Unter diesem Aspekt betrachtet, scheint die Auswirkung der oxidativen Belastung durch Hypoxie doch beträchtlich zu sein und das wichtige Redox-„Puffer“-System Albumin wird deutlich ausgelenkt.

Während es beim Albumin zu diesen signifikanten Veränderungen kam, änderte sich der MDA-Wert im Mittel kaum, auch wenn es zu beachten gilt, dass eine große interindividuelle Streuung bei den Veränderungen der MDA-Konzentration gemessen

wurde. Ein möglicher Schluß für diese gegensätzlichen Ergebnisse ist, dass der Albumin-Redox-Zustand ein sensiblerer Marker für oxidativen Stress ist als MDA. Jedoch wurden bei einem früheren Versuch zur Entwicklung einer Messmethode für MDA 12 gesunde Versuchspersonen für sechs Stunden einer Hypoxie (13% FiO₂) ausgesetzt. Wie auch in der vorliegenden Arbeit zeigte sich eine große interindividuelle Streuung der MDA-Veränderungen, aber die größte Zunahme des MDA-Levels trat in der Phase der Reoxygenierung auf (Maximum zwei Stunden nach Beendigung der Hypoxie) (26). In der vorliegenden Arbeit wurden im Zuge der Reoxygenierung keine Proben genommen und daher liegen für diese Phase keine Meßwerte vor. Möglicherweise bedarf es auch einer längeren Hypoxie-Exposition, damit es zu einer relevanten Bildung von MDA kommt. Zudem könnten in den ersten Stunden der Hypoxie auch die körpereigenen antioxidativen Abwehrmechanismen, inklusive dem Albumin als quantitativ bedeutender Redox-„Puffer“, ausreichen, um die oxidative Belastung abzufangen und somit eine gesteigerte Lipidoxidation zu unterbinden. Zur fehlenden Veränderung der MDA-Konzentration passt auch, dass es beim HNA-2 zu keinem deutlichen Anstieg während der Hypoxie kam. Das spricht dafür, dass die aufgetretene oxidative Belastung eher mild ist und mit der großen Menge an reduzierten Thiolen (besonders in Form des HMA) im Plasma ein potenter und leicht regenerierbarer Redox-„Puffer“ zur Verfügung steht. Die Veränderungen am Albumin könnten dann als ein frühes Anzeichen einer Inanspruchnahme des antioxidativen Systems gesehen werden, wodurch es gelingt, nennenswerte irreversible Schäden und Veränderungen zu verhindern.

Zum Teil traten große relative Anstiege beim HNA-2 auf, welche vermutlich den geringen Mengen von HNA-2 im Plasma geschuldet sind. Bei diesen geringen Konzentrationen wird auch die verwendete Meßmethode verhältnismäßig ungenau.

5.2. Überlegungen zu abweichenden Ergebnissen

Einige Probanden und Probandinnen zeigten allerdings keine zunehmende Oxidation des Albumins während der Hypoxie. Bei vier Probanden und Probandinnen kam es zu einem Anstieg des HMA-Wertes, sie verhielten sich nicht so wie die anderen Versuchspersonen und somit auch anders als erwartet. Bei drei dieser Probanden und Probandinnen kam es zudem zu einer Abnahme des MDA-Wertes, bei einer

dieser Personen blieb die MDA-Konzentration gleich. Bei einer weiteren Versuchsperson blieb das HMA gleich und der MDA-Wert stieg nur geringfügig (+ 0,05 $\mu\text{mol/L}$). Eine mögliche Erklärung dafür ist, dass sich die erwähnten Probanden und Probandinnen bereits zu Beginn des Versuches in einer prooxidativen Stoffwechsellage befunden haben. Die Regeneration der antioxidativen Systeme könnte dann gegenüber dem geringen oxidativen Stress während der Hypoxie überwiegen. Anamnestische Hinweise auf eine vermehrte präexistente oxidative Belastung bei diesen Teilnehmern und Teilnehmerinnen gibt es allerdings nicht. Zwei der genannten Versuchspersonen zeigten vor der Exposition HMA-Werte am unteren Rand und HNA-1-Werte am oberen Rand aller gemessenen Probanden und Probandinnen. Eine der beiden Personen zeigte vor dem Versuch zudem eine MDA-Konzentration am oberen Rand der Messwerte. Diese Messwerte könnten als laborchemischer Hinweis auf eine präexistente oxidative Belastung angesehen werden. Möglicherweise bestehen auch individuelle Unterschiede im Hinblick auf die Toleranz von Hypoxie.

5.3. Blutbildveränderungen

Obwohl sich der Leukozytenwert unter den Probanden und Probandinnen sehr unterschiedlich verhalten hat, ist der doch sehr deutliche Anstieg bei den männlichen Teilnehmern an dieser Stelle erwähnenswert. Bei 12 von 14 der Probanden kam es zu einem Anstieg der Leukozyten. Bei den Frauen sank der Leukozyten-Wert bei vier von sieben Teilnehmerinnen. Das quantitative Ausmaß der Veränderungen war bei den Männern deutlich größer. Die größte Veränderung war + 4,2 x 10³/ μL bei den Teilnehmern, bei den Teilnehmerinnen war es lediglich + 1,4 x 10³/ μL . Interessant war dabei, dass die Leukozytenänderung (obwohl in absoluten Zahlen nicht besonders stark ausgeprägt) bei den Frauen eindrucksvoll mit der Veränderung der Sauerstoffsättigung nach 2 und 3 Stunden korrelierte (vgl. Abbildung 26). Bei den Männern war dieser Effekt nicht zu beobachten.

Wie bereits in der Einleitung erwähnt, kommt es während einer Hypoxie zu einer vermehrten Ausschüttung von Zytokinen. Das kann zu einer vermehrten Migration von Leukozyten in den Blutkreislauf führen. Ob es sich bei dem signifikanten Unterschied zwischen Männern und Frauen um einen Zufall handelt oder auf einem

bestimmten physiologischen Vorgang beruht, lässt sich aus dieser Arbeit nicht beantworten. Dass Sexualhormone Einfluss auf Immunreaktionen konnte bereits mehrfach im Tierversuch gezeigt werden. In einer Studie mit Mäusen von Knöfler et al. aus dem Jahr 2000 konnten bei männlichen Individuen deutlich erhöhte Blutlevel von IL-6 und TNF- α , also von Cytokinen, die eine Rekrutierung von Leukozyten begünstigen, im Vergleich zu den weiblichen Tieren nach Hypoxie gemessen werden. Die Autoren vermuten, dass die unterschiedlichen Sexualhormone die Immunantwort auf einen Stressor wie Hypoxie modulieren (50). Frink et al. konnten im Jahr 2006 zeigen, dass eine Behandlung von Mäusen mit Östradiol zu einer geringeren Ausschüttung von proinflammatorischen Cytokinen nach einer traumatischen Hämorrhagie führt (51). Eine Studie aus dem Jahr 2007 von Shimizu et al. zeigte wiederum, dass eine Androgenblockade mit Flutamid bei Mäusen ebenfalls zu verringerten systemischen Werten von IL-6 nach traumatischer Hämorrhagie. Eine gleichzeitige Östrogen-Rezeptor-Blockade mit Fluvestrant verminderte diesen Effekt (52). Inwieweit diese Ergebnisse auch auf den Menschen, beziehungsweise auf die Situation einer normobaren Hypoxie übertragbar sind, ist unklar.

Bei der vorliegenden Arbeit ist die Anzahl der Teilnehmer und Teilnehmerinnen mit 21 sehr gering und nur sieben sind weiblich. Um verlässlichere Aussagen über die Änderung der Leukozyten während Hypoxie und die zugrunde liegenden Mechanismen zu erhalten, sollten größere Untersuchungen durchgeführt werden und mehrere spezifische Marker der Immunantwort, wie etwa Zytokine, gemessen werden.

5.4. Probleme während der Durchführung

Die für den Versuch verwendete Höhenkammer besitzt keine Vorrichtung für die CO₂-Elimination. Befinden sich mehr als fünf Probanden oder Probandinnen in der Höhenkammer, kommt es über den Verlauf der vier Stunden des Versuchs zu einer Anreicherung von CO₂ in der Kammer. Durch einen Sicherheitsmechanismus wird der Höhenkammer ab einem Gehalt von mehr als 0,6% CO₂ in der Atemluft Frischluft zugeführt, wodurch es zu einem Verlust der Zielhöhe kommt. Ein Versuchsdurchlauf musste daher abgebrochen werden.

5 Teilnehmerinnen mussten die Höhenkammer aufgrund von auftretender Kreislaufinstabilität vorzeitig verlassen. Eine Probandin musste sich übergeben. Die vorzeitig ausgeschiedenen Teilnehmerinnen wurden nicht in die Auswertung miteinbezogen. Vereinzelt klagten Probandinnen und Probanden über Schwindel und Kreislaufbeschwerden, welche allerdings nicht zu einem Ausscheiden aus dem Versuch geführt haben. Etwa ein Drittel der Teilnehmer und Teilnehmerinnen berichteten im Verlauf der Hypoxie-Exposition über Kopfschmerzen, welche jedoch nie zu einem Ausscheiden aus dem Versuch führten.

5.5. Limitationen

Die wichtigste Einschränkung der durchgeführten Studie ist die geringe Anzahl an Probanden und Probandinnen. Die vorliegende Arbeit sollte als Pilotstudie einen möglichen Effekt der Höhenexposition auf den Redox-Zustand von Albumin untersuchen, welcher auch nachgewiesen werden konnte. Um präzisere Aussagen zur Rolle von Albumin im Redox-Haushalt in großen Höhen zu gewinnen, müssten Untersuchungen mit einer größeren Zahl von Probanden und Probandinnen durchgeführt werden.

Eine weitere Einschränkung ist, dass die Untersuchungen in normobarer Hypoxie und somit in einer simulierten Höhe durchgeführt wurden. Der Vorteil davon ist, dass vor allem die Effekte von Hypoxie gemessen werden können. Bei einem tatsächlichen Aufenthalt in großen Höhen kommen neben der Hypoxie noch andere Stressoren zum Tragen. So ist etwa die Belastung durch ionisierende Strahlung (insbesondere UV-Strahlung) in großen Höhen ein wesentlicher exogener Faktor, der ebenfalls auf den Redox-Haushalt einwirkt. Auch geht der Aufenthalt in großen Höhen in den meisten Fällen mit erheblicher körperlicher Anstrengung einher, welche ebenfalls zu einer erhöhten oxidativen Belastung führt. Ein alleiniger Aufenthalt in normobarer Hypoxie in Ruhe spiegelt somit die wirklichen Bedingungen in großen Höhen nicht optimal wider. Jedoch können in Anlagen wie der Höhenkammer in Graz Untersuchungen unter gut kontrollierbaren und dokumentierbaren Bedingungen durchgeführt werden, wie diese bei einem tatsächlichen Aufenthalt in großen Höhen nicht realisierbar sind.

Da es auch in der simulierten Höhe zu einer Zunahme der Atemfrequenz kommt, sollte es trotz des erhöhten CO₂-Gehaltes (bis zu 0,6%) in der Atemluft in der Höhenkammer nicht zu einem relevanten Anstieg des CO₂ im Blut kommen. Daher ist nicht von einer Auswirkung auf den Redox-Haushalt auszugehen.

5.6. Neue Fragestellungen

Diese Pilotstudie kann auch als Basis für weitere Untersuchungen bezüglich der Veränderung des Redox-Zustandes von Albumin in großen Höhen dienen. Besonders längere Aufenthalte in großen Höhen und die oxidative Belastung nach Ende der Hypoxie könnten in das Zentrum zukünftiger Untersuchungen rücken.

Die oben beschriebenen Ergebnisse sollten vor allem im Rahmen von Untersuchungen mit einer höheren Anzahl von Probanden und Probandinnen überprüft werden. Dabei könnten auch andere Marker des oxidativen Stresses bestimmt werden und auch die Phase der Reoxygenierung in Betracht gezogen werden. Eine Ausdehnung der Expositionsdauer sollte, unter Beachtung der Praktikabilität, angedacht werden. Ebenso wäre es interessant, mit Hilfe einer arteriellen Blutgasanalyse das Ausmaß der Hypoxämie genauer bestimmen zu können als mit der Pulsoxymetrie. Dadurch könnte indirekt über den pH- und pCO₂-Wert auch auf das individuelle Ausmaß der Hyperventilation geschlossen werden. Die hier zufällig festgestellten Unterschiede zwischen den Geschlechtern bei den Änderungen der Leukozytenwerte sollten in dafür geeigneten Untersuchungen genauer betrachtet werden.

Eine ebenfalls interessante Fragestellung, insbesondere für die Höhenmedizin, wäre, wie sich körperliche Belastung unter normalen Bedingungen im Vergleich zu körperlicher Belastung in großen Höhen auf den Albumin-Redox-Zustand auswirkt. Mit der Verfügbarkeit einer Höhenkammer könnte diese Fragestellung leicht beantwortet werden. Im Rahmen definierter sportlicher Belastungen gesunder Männer konnten Lamprecht et al. bereits vor 10 Jahren auf signifikante Auslenkungen des Albumin-Redox-Status bei gesunden Männern hinweisen (53).

Dass ROS auf zellulärer Ebene nicht nur schädigend, sondern auch als Botenstoffe dienen und regulierend in den Zellstoffwechsel eingreifen, rückte in den letzten

Jahren zunehmend in das Interesse der Forschung. Auch für den Aufenthalt in großen Höhen, beziehungsweise für Hypoxie generell, gibt es Hinweise, dass ROS für die Initiierung von Anpassungsvorgängen von Bedeutung sind (15). Von diesem Betrachtungspunkt aus wäre es auch interessant zu untersuchen, ob es einen Zusammenhang zwischen dem Ausmaß der Albuminoxidation und der individuellen Anpassungsfähigkeit an Hypoxie gibt.

6. Literaturverzeichnis

- (1) Salisbury R, Hawley E. The Himalaya by the numbers: A statistical analysis of mountaineering in the Nepal Himalaya. Kathmandu: Vajra Publications; 2011
- (2) Bärtsch P, Saltin B. General introduction to altitude adaptation and mountain sickness. Scand J Med Sci Sports 2008;18(s1):1-10.
- (3) Severinghaus JW. Simple, accurate equations for human blood O₂ dissociation computations. J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol 1979;46(3):599-602.
- (4) Baertsch P. Höhenanpassung. Dtsch Z Sportmed 2000;51:139-140.
- (5) Schommer K, Bärtsch P. Basiswissen für die höhenmedizinische Beratung. Dtsch Arztebl Int 2011;108(49):839-848.
- (6) Peacock AJ. ABC of oxygen: oxygen at high altitude. BMJ 1998;317(7165):1063-1066.
- (7) Avian A. Auswirkung unterschiedlicher Pausenregime auf die Beanspruchung und Erholung beim Bergsteigen in mittleren und extremen Höhen unter Berücksichtigung bioklimatischer Aspekte [Dissertation]. Graz: Karl-Franzens-Universität Graz; 2011.
- (8) Dosek A, Ohno H, Acs Z, Taylor AW, Radak Z. High altitude and oxidative stress. Respir Physiol Neurobiol 2007;158(2-3):128-131.
- (9) Askew E. Work at high altitude and oxidative stress: antioxidant nutrients. Toxicology 2002;180(2):107-119.
- (10) Sies H. Oxidative stress. London: Academic Press; 1985.
- (11) Patel RP, McAndrew J, Sellak H, White CR, Jo H, Freeman BA, et al. Biological aspects of reactive nitrogen species. Biochim Biophys Acta 1999;1411(2):385-400.
- (12) Sies H. Strategies of antioxidant defense. The FEBS Journal 1993;215(2):213-219.

- (13) Bakuradze T. Untersuchungen zur antioxidativen Wirksamkeit von Koffeinhaltsstoffen/- extrakten und Kaffeegetränken *in vitro* und bei Probanden [Dissertation]. Kaiserslautern: Technische Universität Kaiserslautern; 2010.
- (14) Hancock JT, Desikan R, Neill SJ. Role of reactive oxygen species in cell signalling pathways. *Biochem Soc Trans* 2001;29(Pt 2):345-350.
- (15) Zepeda AB, Pessoa A, Castillo RL, Figueroa CA, Pulgar VM, Farías JG. Cellular and molecular mechanisms in the hypoxic tissue: role of HIF- 1 and ROS. *Cell Biochem Funct* 2013;31(6):451-459.
- (16) Domej W, Oetl K, Siebenhofer G, Küpper T. Reactive species in hypobaric and normobaric hypoxia. In: Schobersberger W, Schobersberger B, Sumann G, Domej W, editors. *Jahrbuch der Österreichischen Gesellschaft für Alpin- und Höhenmedizin* 2014. Innsbruck: ÖGHAM; 2014. p. 287-310.
- (17) Turrens JF. Mitochondrial formation of reactive oxygen species. *J Physiol* 2003;552(2):335-344.
- (18) Panday A, Sahoo MK, Osorio D, Batra S. NADPH oxidases: an overview from structure to innate immunity-associated pathologies. *Cell Mol Immunol* 2015;12(1):5-23.
- (19) Bandyopadhyay U, Das D, Banerjee RK. Reactive oxygen species: oxidative damage and pathogenesis. *Curr Sci* 1999;77:658-666.
- (20) Davies KJ. Oxidative stress: the paradox of aerobic life. *Biochem Soc Symp* 1995;61:1-31.
- (21) Rees MD, Kennett EC, Whitelock JM, Davies MJ. Oxidative damage to extracellular matrix and its role in human pathologies. *Free Radic Biol Med* 2008;44(12):1973-2001.
- (22) Pisoschi AM, Pop A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *Eur J Med Chem* 2015;97:55-74.
- (23) Schneider C. An update on products and mechanisms of lipid peroxidation. *Mol Nutr Food Res* 2009;53(3):315-321.

- (24) Ayala A, Munoz MF, Arguelles S. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxid Med Cell Longev* 2014;2014(Article ID 360438):31 Seiten.
- (25) Marnett LJ. Oxy radicals, lipid peroxidation and DNA damage. *Toxicology* 2002;181:219-222.
- (26) Pilz J, Meineke I, Gleiter CH. Measurement of free and bound malondialdehyde in plasma by high-performance liquid chromatography as the 2,4-dinitrophenylhydrazine derivative. *J Chromatogr B* 2000;742(2):315-325.
- (27) Botham KM, Mayes PA. Lipids of physiologic significance. In: Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW, editors. *Harper's Illustrated Biochemistry*. 26th ed. New York: Lange Medical Books/McGraw-Hill; 2003. p. 111-121.
- (28) Voulgaridou G, Anestopoulos I, Franco R, Panayiotidis MI, Pappa A. DNA damage induced by endogenous aldehydes: current state of knowledge. *Mutat Res Fundam Mol Mech Mutagen* 2011;711(1):13-27.
- (29) Singh A, Ramnath RD, Foster RR, Wylie EC, Fridén V, Dasgupta I, et al. Reactive oxygen species modulate the barrier function of the human glomerular endothelial glycocalyx. *PLoS one* 2013;8(2):e55852.
- (30) Oetl K, Marsche G. Redox State of Human Serum Albumin in Terms of Cysteine-34 in Health and Disease. *Meth Enzymol* 2010;474:181-195.
- (31) Turell L, Radi R, Alvarez B. The thiol pool in human plasma: the central contribution of albumin to redox processes. *Free Radic Biol Med* 2013;65:244-253.
- (32) Oetl K, Stauber R. Physiological and pathological changes in the redox state of human serum albumin critically influence its binding properties. *Br J Pharmacol* 2007;151(5):580-590.
- (33) Oetl K, Birner-Gruenberger R, Spindelboeck W, Stueger HP, Dorn L, Stadlbauer V, et al. Oxidative albumin damage in chronic liver failure: relation to albumin binding capacity, liver dysfunction and survival. *J Hepatol* 2013;59(5):978-983.

- (34) Roche M, Rondeau P, Singh NR, Tarnus E, Bourdon E. The antioxidant properties of serum albumin. *FEBS Lett* 2008;582(13):1783-1787.
- (35) Taverna M, Marie A, Mira J, Guidet B. Specific antioxidant properties of human serum albumin. *Ann Intensive Care* 2013;3(1):4.
- (36) Gutteridge J. Caeruloplasmin: a plasma protein, enzyme, and antioxidant. *Ann Clin Biochem* 1978;15(1-6):293-296.
- (37) Cogalgil S, Taysi S. Levels of Antioxidant Proteins and Soluble Intercellular Adhesion Molecule-1 in Serum of Patients with Rheumatoid Arthritis. *Ann Clin Lab Sci* 2002;32(3):264-270.
- (38) Evans T. Albumin as a drug—biological effects of albumin unrelated to oncotic pressure. *Aliment Pharmacol Ther* 2002;16(s5):6-11.
- (39) Turell L, Botti H, Carballal S, Radi R, Alvarez B. Sulfenic acid—a key intermediate in albumin thiol oxidation. *J Chromatogr B* 2009;877(28):3384-3392.
- (40) Davies KJA. An Overview of Oxidative Stress. *IUBMB Life* 2000;50(4-5):241-244.
- (41) Maiti P, Singh SB, Sharma AK, Muthuraju S, Banerjee PK, Ilavazhagan G. Hypobaric hypoxia induces oxidative stress in rat brain. *Neurochem Int* 2006;49(8):709-716.
- (42) Clanton TL. Hypoxia-induced reactive oxygen species formation in skeletal muscle. *J Appl Physiol* (1985) 2007;102(6):2379-2388.
- (43) Liu X, He L, Stensaas L, Dinger B, Fidone S. Adaptation to chronic hypoxia involves immune cell invasion and increased expression of inflammatory cytokines in rat carotid body. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2009;296(2):L158-L166.
- (44) Rohm I, Ratka J, Pistulli R, Goebel B, Gecks T, Figulla HR, et al. Impact of Systemic Normobaric Short-Term Hypoxia on Pro-Inflammatory and Anti-Inflammatory Cytokines in Healthy Volunteers. *Clin Lab* 2015;61(8):1053-1059.

- (45) Eltzschig HK, Carmeliet P. Hypoxia and inflammation. *N Engl J Med* 2011;364(7):656-665.
- (46) Peters T. All About Albumin: Biochemistry, Genetics and Medical applications. 1st ed. San Diego (CA): Academic Press; 1996.
- (47) Anraku M, Chuang VTG, Maruyama T, Otagiri M. Redox properties of serum albumin. *Biochim Biophys Acta* 2013;1830(12):5465-5472.
- (48) Curry S, Mandelkow H, Brick P, Franks N. Crystal structure of human serum albumin complexed with fatty acid reveals an asymmetric distribution of binding sites. *Nat Struct Biol* 1998;5(9):827-835.
- (49) Imai H, Era S, Hayashi T, Negawa T, Matsuyama Y, Okihara K, et al. Effect of Propolis Supplementation on the Redox State of Human Serum Albumin during High-Intensity Kendo Training. *Adv Exerc Sport Physiol* 2005;11(3):109-113.
- (50) Knoferl MW, Jarrar D, Schwacha MG, Angele MK, Cioffi WG, Bland KI, et al. Severe hypoxemia in the absence of blood loss causes a gender dimorphic immune response. *Am J Physiol Cell Physiol* 2000;279(6):C2004-C2010.
- (51) Frink M, Thobe BM, Hsieh YC, Choudhry MA, Schwacha MG, Bland KI, et al. 17beta-Estradiol inhibits keratinocyte-derived chemokine production following trauma-hemorrhage. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2007;292(2):L585-91.
- (52) Shimizu T, Yu HP, Hsieh YC, Choudhry MA, Suzuki T, Bland KI, et al. Flutamide attenuates pro-inflammatory cytokine production and hepatic injury following trauma-hemorrhage via estrogen receptor-related pathway. *Ann Surg* 2007;245(2):297-304.
- (53) Lamprecht M, Greilberger JF, Schwaberg G, Hofmann P, Oettl K. Single bouts of exercise affect albumin redox state and carbonyl groups on plasma protein of trained men in a workload-dependent manner. *J Appl Physiol* (1985) 2008;104(6):1611-1617.

7. Anhang

7.1. Tabellen:

Rohdaten

Korrelationen von Blutbild, SpO₂-Werten, klinischer Chemie und Sport

Korrelationen der Albuminänderungen mit ausgewählten Meßwerten

Erhebung von Geschlechterunterschieden

7.1.1. Rohdaten

ProbandIn	Geschlecht	Fläche HMA vorher	Fläche HNA-1 vorher	Fläche HNA-2 vorher	Fläche total vorher	Anteil HMA vorher	Anteil HNA-1 vorher	Anteil HNA-2 vorher	Fläche HMA nachher	Fläche HNA-1 nachher	Fläche HNA-2 nachher	Fläche total nachher	Anteil HMA nachher
1	männl.	2299,1	503,5	65,3	2868,0	80,2%	17,6%	2,3%	2359,8	504,7	65,7	2930,2	80,5%
3	männl.	2150,8	590,2	156,5	2897,5	74,2%	20,4%	5,4%	2178,1	643,5	111,3	2932,8	74,3%
4	männl.	2108,0	513,1	28,3	2649,3	79,6%	19,4%	1,1%	2048,1	644,1	37,3	2729,5	75,0%
5	männl.	2294,7	594,3	82,2	2971,3	77,2%	20,0%	2,8%	2280,9	657,3	94,7	3032,9	75,2%
13	männl.	2541,7	500,3	44,5	3086,6	82,3%	16,2%	1,4%	2315,1	559,4	60,5	2935,0	78,9%
14	männl.	2438,4	564,9	47,8	3051,1	79,9%	18,5%	1,6%	2405,7	624,0	62,0	3091,7	77,8%
15	männl.	2064,0	587,9	37,8	2689,6	76,7%	21,9%	1,4%	2184,3	498,4	28,3	2711,0	80,6%
16	männl.	2565,4	518,5	95,7	3179,6	80,7%	16,3%	3,0%	2488,2	775,0	45,3	3308,5	75,2%
17	weibl.	2849,0	401,9	51,9	3302,8	86,3%	12,2%	1,6%	2595,8	467,5	60,9	3124,2	83,1%
18	männl.	3062,8	591,9	74,2	3728,9	82,1%	15,9%	2,0%	2871,8	444,0	65,7	3381,6	84,9%
19	weibl.	2060,2	479,9	24,4	2564,4	80,3%	18,7%	1,0%	1998,6	503,0	42,7	2544,3	78,6%
20	männl.	2485,9	589,1	50,2	3125,2	79,5%	18,8%	1,6%	2534,7	704,4	56,5	3295,6	76,9%
21	weibl.	2885,7	546,1	39,3	3471,1	83,1%	15,7%	1,1%	2448,1	457,0	54,3	2959,4	82,7%
22	weibl.	2535,1	622,0	71,4	3228,5	78,5%	19,3%	2,2%	2431,5	671,3	61,2	3164,0	76,8%
24	männl.	2548,4	505,7	37,8	3091,9	82,4%	16,4%	1,2%	2680,1	549,6	92,6	3322,3	80,7%
25	männl.	2467,7	536,6	71,9	3076,2	80,2%	17,4%	2,3%	2299,1	603,6	78,7	2981,4	77,1%
26	weibl.	1945,2	417,4	79,5	2442,0	79,7%	17,1%	3,3%	1955,3	454,6	87,8	2497,7	78,3%
27	männl.	2302,5	514,0	35,4	2851,8	80,7%	18,0%	1,2%	2404,6	592,4	97,3	3094,3	77,7%
28	männl.	2142,6	434,9	31,1	2608,5	82,1%	16,7%	1,2%	2241,4	401,8	43,9	2687,2	83,4%
31	weibl.	1607,7	253,7	4,1	1865,4	86,2%	13,6%	0,2%	1436,9	266,0	11,1	1714,0	83,8%
33	weibl.	1591,9	356,0	3,9	1951,8	81,6%	18,2%	0,2%	1458,5	412,8	0,7	1872,0	77,9%

ProbandIn	Anteil HNA-1 nachher	Anteil HNA-2 nachher	Änderung HMA- Anteil	Änderung HNA-1- Anteil	Änderung HNA-2- Anteil	Leukozyten vorher {G/L}	Leukozytne nachher {G/L}	Änderung Leukozyten {G/L}	SpO ₂ vorher {%	SpO ₂ nach 1 h {%	SpO ₂ nach 2 h {%	SpO ₂ nach 3 h {%	SpO ₂ -Differenz nach 1 h zum Ausgangswert {%	SpO ₂ -Differenz nach 2 h zum Ausgangswert {%
1	17,2%	2,2%	0,4%	-0,3%	0,0%	7,1	6,6	-0,5	98	81	79	82	-17	-19
3	21,9%	3,8%	0,0%	1,6%	-1,6%	3,4	4,7	1,3	98	79	81	80	-19	-17
4	23,6%	1,4%	-4,5%	4,2%	0,3%	6,4	10,0	3,6	98	83	72	75	-15	-26
5	21,7%	3,1%	-2,0%	1,7%	0,4%	5,1	8,0	2,9	98	86	81	81	-12	-17
13	19,1%	2,1%	-3,5%	2,8%	0,6%	8,4	10,4	2,0	98	72	73	76	-26	-25
14	20,2%	2,0%	-2,1%	1,7%	0,4%	5,8	8,3	2,5	98	75	79	79	-23	-19
15	18,4%	1,0%	3,8%	-3,5%	-0,4%	5,0	5,6	0,6	98	72	78	78	-26	-20
16	23,4%	1,4%	-5,5%	7,1%	-1,6%	4,0	5,4	1,4	99	79	81	79	-20	-18
17	15,0%	2,0%	-3,2%	2,8%	0,4%	8,1	6,9	-1,2	99	79	83	86	-20	-16
18	13,1%	1,9%	2,8%	-2,7%	0,0%	4,7	7,5	2,8	98	74	79	79	-24	-19
19	19,8%	1,7%	-1,8%	1,1%	0,7%	5,0	5,3	0,3	98	79	75	80	-19	-23
20	21,4%	1,7%	-2,6%	2,5%	0,1%	5,5	6,9	1,4	98	80	82	83	-18	-16
21	15,4%	1,8%	-0,4%	-0,3%	0,7%	5,8	7,2	1,4	98	76	73	74	-22	-25
22	21,2%	1,9%	-1,7%	2,0%	-0,3%	9,2	9,0	-0,2	96	80	78	79	-16	-18
24	16,5%	2,8%	-1,8%	0,2%	1,6%	7,1	9,2	2,1	99	74	83	82	-25	-16
25	20,2%	2,6%	-3,1%	2,8%	0,3%	7,7	11,9	4,2	98	79	75	81	-19	-23
26	18,2%	3,5%	-1,4%	1,1%	0,3%	8,1	7,5	-0,6	98	78	84	77	-20	-14
27	19,1%	3,1%	-3,0%	1,1%	1,9%	4,5	5,1	0,6	98	80	78	80	-18	-20
28	15,0%	1,6%	1,3%	-1,7%	0,4%	5,6	5,4	-0,2	98	81	75	82	-17	-23
31	15,5%	0,7%	-2,4%	1,9%	0,4%	8,4	7,1	-1,3	98	83	85	86	-15	-13
33	22,1%	0,0%	-3,7%	3,8%	-0,2%	5,9	7,1	1,2	98	77	76	76	-21	-22

ProbandIn	SpO ₂ -Differenz nach 3 h zum Ausgangswert {%}	MDA vorher {nmol/mL}	MDA nachher {nmol/mL}	MDA-Differenz {nmol/mL}	Erythrozyten {T/L}	Hämoglobin vorher {g/dL}	Hämatokrit vorher {%}	MCV vorher {fL}	MCH vorher {pg}	MCHC vorher {g/dL}	Thrombozyten vorher {G/L}	Erythrozyten nachher {T/L}	Hämoglobin nachher {g/dL}	Hämatokrit nachher {%}
1	-16	1,2	1,1	-0,1	4,7	14,6	42,3	89,6	30,9	34,5	273	4,8	14,7	43,1
3	-18	1,8	1,9	0,1	4,6	14,7	41,6	90,8	32,1	35,3	231	4,7	14,7	42,5
4	-23	1,3	2,1	0,7	5,0	14,7	43,1	86,4	29,5	34,1	268	5,0	14,7	43,0
5	-17	1,5	1,6	0,0	4,6	14,4	41,3	89,6	31,2	34,9	234	4,9	15,0	43,7
13	-22	1,2	2,6	1,3	4,7	14,9	42,1	90,1	31,9	35,4	239	4,5	14,4	40,7
14	-19	1,8	1,2	-0,6	5,2	15,1	45,1	86,6	29,0	33,5	162	5,2	15,1	45,0
15	-20	1,4	1,2	-0,2	5,0	15,1	44,6	89,2	30,2	33,9	305	5,3	15,6	46,6
16	-20	1,0	1,1	0,1	5,0	14,0	41,1	81,9	27,9	34,1	307	5,0	14,1	40,8
17	-13	1,3	1,6	0,2	4,4	13,7	40,2	90,5	30,9	34,1	372	4,3	13,3	38,3
18	-19	1,4	1,1	-0,3	5,1	15,0	43,4	85,4	29,5	34,6	196	5,0	14,9	42,4
19	-18	1,1	2,2	1,1	4,7	13,3	39,0	83,7	28,5	34,1	244	4,8	13,6	40,1
20	-15	1,1	1,1	-0,1	5,0	15,2	44,6	89,2	30,4	34,1	262	5,2	15,9	46,2
21	-24	1,4	1,9	0,5	4,9	12,3	39,1	80,3	25,3	31,5	281	4,9	12,3	38,8
22	-17	1,0	1,2	0,2	5,1	13,7	41,5	81,9	27,0	33,0	309	5,0	13,6	41,2
24	-17	1,7	1,3	-0,4	5,0	15,2	44,7	90,1	30,6	34,0	304	5,3	16,2	47,9
25	-17	1,3	1,8	0,5	5,1	14,7	42,8	84,4	29,0	34,3	232	5,1	14,8	42,9
26	-21	1,4	1,2	-0,2	4,5	13,2	38,0	83,7	29,1	34,7	246	4,8	13,9	39,8
27	-18	1,1	1,5	0,3	4,5	14,5	41,2	91,2	32,1	35,2	205	4,7	14,8	42,1
28	-16	1,4	1,4	0,0	5,0	15,3	43,1	86,7	30,8	35,5	359	5,1	15,4	44,4
31	-12	1,4	1,6	0,3	4,6	13,4	37,4	86,6	29,5	34,0	248	4,6	13,5	39,3
33	-22	2,1	1,5	-0,6	4,1	12,8	37,9	91,5	30,9	33,8	324	4,1	12,6	37,0

ProbandIn	MCV nachher {fL}	MCH nachher {pg}	MCHC nachher {g/dl}	Thrombozyten nachher {G/L}	GGT {U/L}	Glucose {mg/dl}	AST {U/L}	ALT {U/L}	Albumin {g/dL}	GE {g/dL}	Creatinin {mg/dL}	CRP {mg/dL}	Sport {h/Woche}
1	89,6	30,6	34,1	290	14	100	26	23	4,8	7,7	0,92	0,1	17,5
3	90,2	31,2	34,6	257	13	116	32	37	4,7	6,7	0,85	0,0	4
4	86,2	29,5	34,2	309	39	131	23	37	4,6	7,1	0,77	0,1	4,5
5	89,4	30,7	34,3	253	21	82	18	15	4,8	6,9	1,14	0,1	7,5
13	90,0	31,9	35,4	215	22	79	33	15	4,9	7,0	1,03	0,1	8
14	86,0	29,9	33,6	174	22	100	21	21	4,9	7,5	1,13	0,1	7
15	88,6	29,7	33,5	317	24	96	20	16	4,8	7,4	1,00	0,0	9
16	81,9	28,3	34,6	307	34	95	23	25	5,0	7,5	0,98	0,1	5
17	90,1	31,3	34,7	325	11	90	21	13	5,1	7,8	0,75	0,0	3
18	85,7	30,1	35,1	212	21	109	18	19	5,1	7,2	0,86	0,1	8
19	83,0	28,2	33,9	251	22	59	36	31	4,6	7,0	0,90	0,2	7
20	88,5	30,5	34,4	280	19	98	15	17	5,0	7,4	0,78	0,0	5
21	79,3	25,2	31,7	275	11	96	21	10	4,9	7,5	0,74	0,1	3
22	81,7	27,0	33,0	277	14	89	17	14	5,1	8,1	0,86	0,0	4
24	89,7	30,3	33,8	338	23	113	17	20	5,1	7,6	0,96	0,0	20
25	84,8	29,2	34,5	236	17	103	22	20	5,1	7,5	0,89	0,1	5
26	83,8	29,3	34,9	257	14	93	21	15	4,0	6,4	0,90	0,2	12
27	90,5	31,8	35,2	209	14	74	17	13	5,0	7,2	1,08	0,0	4
28	87,2	30,3	34,7	375	12	88	22	27	4,8	7,2	1,07	0,1	6,5
31	85,6	29,4	34,4	279	27	92	23	23	4,6	7,4	0,75	0,1	5,5
33	90,2	30,7	34,1	332	13	87	18	20	5,0	7,6	0,74	0,0	8

7.1.2. Korrelationen von Blutbild, SpO₂-Werten, klinischer Chemie und Sport

	Leukozyten vorher	Leukozyten nachher	Leukozyten-Differenz	SpO ₂ vorher	SpO ₂ nach 1 h	SpO ₂ nach 2 h
Leukozyten vorher	x					
ρ =	x					
Leukozyten nachher	0,6332 x					
ρ =	0,0021 x					
Leukozyten-Differenz	-0,2746	0,5704 x				
ρ =	0,2284	0,0069 x				
SpO ₂ vorher	-0,2829	-0,1730	0,0853 x			
ρ =	0,2140	0,4534	0,7131 x			
SpO ₂ nach 1 h	0,0080	-0,1011	-0,1341	-0,1503 x		
ρ =	0,9726	0,6628	0,5623	0,5155 x		
SpO ₂ nach 2 h	0,0778	-0,2692	-0,4169	0,2762	0,1657 x	
ρ =	0,7376	0,2381	0,0601	0,2254	0,4729 x	
SpO ₂ nach 3 h	0,1640	-0,1905	-0,4107	0,2454	0,3806	0,6480
ρ =	0,4774	0,4081	0,0644	0,2836	0,0887	0,0015
SpO ₂ -Differenz nach 1 h zum Ausgangswert	0,0520	-0,0704	-0,1427	-0,3017	0,9879	0,1165
ρ =	0,8227	0,7618	0,5373	0,1883	0,0000	0,6151
SpO ₂ -Differenz nach 2 h zum Ausgangswert	0,1254	-0,2503	-0,4440	0,1256	0,1950	0,9882
ρ =	0,5881	0,2739	0,0438	0,5874	0,3970	0,0000
SpO ₂ -Differenz nach 3 h zum Ausgangswert	0,2227	-0,1632	-0,4391	0,0625	0,4204	0,6146
ρ =	0,3319	0,4795	0,0464	0,7878	0,0577	0,0030
MDA vorher	-0,1987	0,0134	0,2275	0,2183	-0,2136	0,0694
ρ =	0,3878	0,9541	0,3213	0,3417	0,3526	0,7649
MDA nachher	0,1142	0,2915	0,2409	0,0136	-0,0332	-0,5772
ρ =	0,6222	0,1999	0,2928	0,9532	0,8863	0,0061
MDA-Änderung	0,2075	0,2367	0,0739	-0,1115	0,0923	-0,5228
ρ =	0,3667	0,3015	0,7503	0,6305	0,6905	0,0150
Erythrozyten vorher	-0,0512	0,3061	0,4346	-0,1766	-0,2105	-0,2001
ρ =	0,8256	0,1772	0,0490	0,4438	0,3597	0,3844
Hämoglobin vorher	-0,2076	0,1339	0,3866	0,1181	-0,1473	0,0192
ρ =	0,3666	0,5628	0,0834	0,6101	0,5241	0,9342
Hämatokrit vorher	-0,2074	0,2188	0,4918	0,0499	-0,2958	-0,1069
ρ =	0,3671	0,3407	0,0235	0,8300	0,1930	0,6447
MCV vorher	-0,1210	-0,1282	-0,0309	0,2863	-0,0286	0,2044
ρ =	0,6015	0,5796	0,8941	0,2083	0,9019	0,3741

	Leukozyten vorher	Leukozyten nachher	Leukozyten-Differenz	SpO ₂ vorher	SpO ₂ nach 1 h	SpO ₂ nach 2 h
MCH vorher	-0,1559	-0,1516	-0,0229	0,2773	0,0581	0,1968
p =	0,4997	0,5117	0,9215	0,2236	0,8025	0,3924
MCHC vorher	-0,1760	-0,1454	0,0061	0,1882	0,1657	0,1405
p =	0,4455	0,5295	0,9790	0,4139	0,4729	0,5435
Thrombozyten vorher	0,2227	-0,1715	-0,4493	0,1592	0,0657	0,0064
p =	0,3320	0,4574	0,0410	0,4906	0,7772	0,9782
Erythrozyten nachher	-0,1964	0,1300	0,3699	-0,0735	-0,1207	-0,0024
p =	0,3934	0,5744	0,0988	0,7516	0,6023	0,9918
Hämoglobin nachher	-0,2462	0,0699	0,3481	0,1632	-0,0863	0,1744
p =	0,2819	0,7635	0,1220	0,4797	0,7098	0,4496
Hämatokrit nachher	-0,2383	0,0850	0,3586	0,0720	-0,1307	0,1073
p =	0,2981	0,7140	0,1104	0,7565	0,5722	0,6435
MCV nachher	-0,1033	-0,0888	-0,0006	0,2920	-0,0200	0,1977
p =	0,6559	0,7020	0,9979	0,1990	0,9315	0,3903
MCH nachher	-0,1006	-0,0655	0,0254	0,3269	-0,0026	0,2356
p =	0,6643	0,7779	0,9129	0,1480	0,9911	0,3040
MCHC nachher	-0,0517	-0,0349	0,0115	0,2965	0,1003	0,2344
p =	0,8239	0,8807	0,9604	0,1919	0,6654	0,3065
Thrombozyten nachher	0,0690	-0,2165	-0,3421	0,2414	0,1663	0,0546
p =	0,7665	0,3460	0,1291	0,2917	0,4712	0,8140
GGT	-0,1240	0,2120	0,3950	0,2342	0,0731	-0,0537
p =	0,5923	0,3562	0,0764	0,3069	0,7530	0,8173
Glucose	-0,0375	0,3102	0,4250	0,1392	-0,0447	0,0638
p =	0,8719	0,1712	0,0547	0,5474	0,8475	0,7835
AST	-0,0662	-0,1257	-0,0859	0,0750	-0,0742	-0,3026
p =	0,7755	0,5872	0,7113	0,7467	0,7493	0,1824
ALT	-0,3530	-0,1716	0,1614	0,1073	0,2840	-0,1563
p =	0,1165	0,4571	0,4845	0,6433	0,2121	0,4988
Albumin	-0,0722	0,1782	0,2981	0,0481	-0,2264	-0,1425
p =	0,7556	0,4396	0,1894	0,8358	0,3237	0,5376
Gesamteiweiß	0,3224	0,1673	-0,1343	-0,1357	-0,0809	0,0247
p =	0,1541	0,4685	0,5617	0,5575	0,7272	0,9154
Kreatinin	-0,2561	-0,0632	0,1933	0,0393	-0,0798	-0,0306
p =	0,2624	0,7855	0,4012	0,8657	0,7308	0,8954
CRP	0,0846	0,1066	0,0427	0,0376	0,1407	-0,1745
p =	0,7155	0,6456	0,8542	0,8713	0,5429	0,4493
Sport	0,1791	0,1133	-0,0493	0,2440	-0,2587	0,2563
p =	0,4373	0,6249	0,8319	0,2866	0,2575	0,2621

	SpO ₂ nach 3 h	SpO ₂ -Differenz nach 1 h zum Ausgangswert	SpO ₂ -Differenz nach 2 h zum Ausgangswert	SpO ₂ -Differenz nach 3 h zum Ausgangswert
Leukozyten vorher p =				
Leukozyten nachher p =				
Leukozyten-Differenz p =				
SpO ₂ vorher p =				
SpO ₂ nach 1 h p =				
SpO ₂ nach 2 h p =				
SpO ₂ nach 3 h p =	x x			
SpO ₂ -Differenz nach 1 h zum Ausgangswert p =	0,3286 0,1459	x x		
SpO ₂ -Differenz nach 2 h zum Ausgangswert p =	0,6298 0,0022		0,1683 0,4657	x x
SpO ₂ -Differenz nach 3 h zum Ausgangswert p =	0,9829 0,0000		0,3956 0,0758	0,6245 0,0025
MDA vorher p =	-0,1482 0,5214		-0,2402 0,2943	0,0368 0,8740
MDA nachher p =	-0,2973 0,1906		-0,0342 0,8830	-0,5980 0,0042
MDA-Änderung p =	-0,1658 0,4727		0,1065 0,6458	-0,5219 0,0152
Erythrozyten vorher p =	-0,0761 0,7430		-0,1753 0,4471	-0,1784 0,4390
Hämoglobin vorher p =	0,2350 0,3052		-0,1605 0,4870	0,0010 0,9967
Hämatokrit vorher p =	0,0497 0,8307		-0,2930 0,1973	-0,1183 0,6096
MCV vorher p =	0,3061 0,1771		-0,0725 0,7548	0,1653 0,4738
				-0,1941 0,3992 -0,3087 0,1734 -0,1495 0,5179 -0,0448 0,8472 0,2195 0,3392 0,0416 0,8578 0,2607 0,2536

	SpO ₂ nach 3 h	SpO ₂ -Differenz nach 1 h zum Ausgangswert	SpO ₂ -Differenz nach 2 h zum Ausgangswert	SpO ₂ -Differenz nach 3 h zum Ausgangswert
MCH vorher	0,3299	0,0125	0,1590	0,2869
p =	0,1441	0,9570	0,4913	0,2073
MCHC vorher	0,2772	0,1303	0,1150	0,2496
p =	0,2238	0,5735	0,6195	0,2752
Thrombozyten vorher	0,1728	0,0384	-0,0188	0,1476
p =	0,4538	0,8687	0,9354	0,5230
Erythrozyten nachher	-0,0121	-0,1049	0,0093	0,0015
p =	0,9583	0,6510	0,9682	0,9950
Hämoglobin nachher	0,2631	-0,1088	0,1540	0,2396
p =	0,2492	0,6386	0,5051	0,2950
Hämatokrit nachher	0,1753	-0,1374	0,0992	0,1668
p =	0,4471	0,5527	0,6686	0,4698
MCV nachher	0,3235	-0,0650	0,1575	0,2775
p =	0,1526	0,7794	0,4953	0,2232
MCH nachher	0,3459	-0,0538	0,1910	0,2939
p =	0,1246	0,8170	0,4069	0,1959
MCHC nachher	0,2993	0,0502	0,1946	0,2517
p =	0,1876	0,8288	0,3979	0,2710
Thrombozyten nachher	0,1812	0,1226	0,0179	0,1407
p =	0,4318	0,5966	0,9386	0,5431
GGT	-0,1345	0,0337	-0,0927	-0,1830
p =	0,5612	0,8846	0,6893	0,4273
Glucose	-0,1143	-0,0649	0,0436	-0,1441
p =	0,6219	0,7798	0,8510	0,5331
AST	-0,1059	-0,0833	-0,3243	-0,1233
p =	0,6477	0,7197	0,1514	0,5944
ALT	0,0076	0,2571	-0,1784	-0,0126
p =	0,9740	0,2606	0,4390	0,9567
Albumin	0,1844	-0,2259	-0,1548	0,1807
p =	0,4235	0,3248	0,5028	0,4331
Gesamteiweiß	0,2509	-0,0568	-0,0038	0,2841
p =	0,2727	0,8069	0,9869	0,2120
Kreatinin	-0,0099	-0,0832	-0,0378	-0,0177
p =	0,9661	0,7201	0,8707	0,9395
CRP	-0,2051	0,1298	-0,1861	-0,2183
p =	0,3725	0,5749	0,4191	0,3417
Sport	0,0730	-0,2877	0,2257	0,0287
p =	0,7533	0,2060	0,3253	0,9017

	MDA vorher	MDA nachher	MDA-Änderung	Erythrozyten vorher	Hämoglobin vorher	Hämatokrit vorher	MCV vorher	MCH vorher
Leukozyten vorher								
p =								
Leukozyten nachher								
p =								
Leukozyten-Differenz								
p =								
SpO ₂ vorher								
p =								
SpO ₂ nach 1 h								
p =								
SpO ₂ nach 2 h								
p =								
SpO ₂ nach 3 h								
p =								
SpO ₂ -Differenz nach 1 h zum Ausgangswert								
p =								
SpO ₂ -Differenz nach 2 h zum Ausgangswert								
p =								
SpO ₂ -Differenz nach 3 h zum Ausgangswert								
p =								
MDA vorher	x							
p =	x							
MDA nachher	0,0202 x							
p =	0,9307 x							
MDA-Änderung	-0,5458	0,8267 x						
p =	0,0105	0,0000 x						
Erythrozyten vorher	-0,2929	-0,2000	-0,0028 x					
p =	0,1976	0,3847	0,9904 x					
Hämoglobin vorher	0,0007	-0,1792	-0,1506	0,5254 x				
p =	0,9976	0,4369	0,5146	0,0144 x				
Hämatokrit vorher	0,0048	0,2552	-0,2165	0,7216	0,8969 x			
p =	0,9835	0,2643	0,3458	0,0002	0,0000 x			
MCV vorher	0,4361	0,0222	-0,2269	-0,4845	0,4189	0,2199 x		
p =	0,0481	0,9240	0,3227	0,0260	0,0588	0,3383 x		

	MDA vorher	MDA nachher	MDA-Änderung	Erythrozyten vorher	Hämoglobin vorher	Hämatokrit vorher	MCV vorher	MCH vorher	MCHC vorher
MCH vorher	0,2967	0,0668	-0,1110	-0,4458	0,5237	0,2096	0,9265	x	
p =	0,1915	0,7737	0,6318	0,0428	0,0148	0,3619	0,0000	x	
MCHC vorher	-0,0028	0,0806	0,0691	-0,2431	0,5470	0,1532	0,5475	0,8210	x
p =	0,9902	0,7284	0,7659	0,2884	0,0103	0,5073	0,0102	0,0000	x
Thrombozyten vorher	-0,0635	-0,1235	-0,0678	-0,1794	-0,2086	-0,1473	0,0326	-0,0476	-0,1536
p =	0,7846	0,5939	0,7704	0,4366	0,3643	0,5240	0,8886	0,8377	0,5064
Erythrozyten nachher	-0,2116	-0,3563	-0,1795	0,8808	0,5678	0,7300	-0,3308	-0,2972	-0,1392
p =	0,3572	0,1129	0,4362	0,0000	0,0073	0,0002	0,1431	0,1907	0,5473
Hämoglobin nachher	-0,0074	-0,3001	-0,2474	0,5061	0,9343	0,8499	0,3761	0,4646	0,4866
p =	0,9747	0,1862	0,2796	0,0192	0,0000	0,0000	0,0929	0,0338	0,0253
Hämatokrit nachher	0,0286	-0,3300	-0,2926	0,6290	0,8457	0,8855	0,2458	0,2496	0,2054
p =	0,9020	0,1441	0,1980	0,0023	0,0000	0,0000	0,2827	0,2752	0,3718
MCV nachher	0,3974	0,0024	-0,2216	-0,4330	0,4970	0,2777	0,9903	0,9547	0,6262
p =	0,0745	0,9916	0,3344	0,0499	0,0219	0,2229	0,0000	0,0000	0,0024
MCH nachher	0,2829	0,0065	-0,1538	-0,3905	0,5563	0,2567	0,8958	0,9702	0,8057
p =	0,2141	0,9776	0,5057	0,0801	0,0088	0,2613	0,0000	0,0000	0,0000
MCHC nachher	-0,0920	0,0327	0,0792	-0,2848	0,4082	0,0322	0,4541	0,7084	0,8934
p =	0,6918	0,8880	0,7330	0,2109	0,0662	0,8900	0,0386	0,0003	0,0000
Thrombozyten nachher	0,0783	-0,1803	-0,1952	-0,1252	-0,0831	-0,0643	0,0989	0,0304	-0,0755
p =	0,7359	0,4342	0,3966	0,5888	0,7203	0,7818	0,6697	0,8959	0,7451
GGT	-0,1816	0,1137	0,1975	0,3673	0,2476	0,2312	-0,1521	-0,1091	0,0131
p =	0,4308	0,6263	0,3908	0,1015	0,2791	0,3132	0,5106	0,6377	0,9550
Glucose	0,3114	-0,1637	-0,3124	0,3984	0,3563	0,4440	0,0177	-0,0284	-0,0991
p =	0,1695	0,4783	0,1679	0,0737	0,1129	0,0437	0,9393	0,9028	0,6691
AST	-0,1031	0,6718	0,6210	-0,1533	-0,0785	-0,2254	-0,0418	0,1023	0,2732
p =	0,6566	0,0009	0,0027	0,5072	0,7352	0,3259	0,8571	0,6592	0,2308
ALT	0,1369	0,2396	0,1238	0,0974	0,2217	0,0857	0,0260	0,1544	0,3059
p =	0,5541	0,2955	0,5929	0,6746	0,3342	0,7118	0,9110	0,5039	0,1774
Albumin	-0,0146	-0,1334	-0,1035	0,2736	0,2640	0,4210	0,1650	0,0207	-0,1919
p =	0,9499	0,5644	0,6551	0,2300	0,2476	0,0574	0,4748	0,9289	0,4046
Gesamteiweiß	-0,1347	-0,3280	-0,1995	0,2423	-0,0604	0,1784	-0,0759	-0,3039	-0,5486
p =	0,5606	0,1467	0,3870	0,2900	0,7948	0,4390	0,7436	0,1804	0,0100
Kreatinin	-0,0121	-0,1122	-0,0873	0,2341	0,5277	0,4312	0,1644	0,3079	0,4543
p =	0,9586	0,6282	0,7069	0,3071	0,0140	0,0510	0,4764	0,1745	0,0385
CRP	-0,2267	0,2510	0,3379	0,0809	-0,2425	-0,3172	-0,5504	-0,3488	0,0622
p =	0,3230	0,2725	0,1341	0,7274	0,2895	0,1611	0,0097	0,1212	0,7889
Sport	0,1964	-0,2978	-0,3601	-0,0020	0,2477	0,2201	0,2623	0,2379	0,1584
p =	0,3935	0,1899	0,1089	0,0993	0,2789	0,3377	0,2507	0,2990	0,4928

	Thrombozyten vorher	Erythrozyten nachher	Hämoglobin nachher	Hämatokrit nachher	MCV nachher	MCH nachher	MCHC nachher	
MCH vorher								
ρ =								
MCHC vorher								
ρ =								
Thrombozyten vorher	x							
ρ =	x							
Erythrozyten nachher		-0,1795 x						
ρ =		0,4363 x						
Hämoglobin nachher		-0,2117	0,6966 x					
ρ =		0,3569	0,0005 x					
Hämatokrit nachher		-0,1595	0,8287	0,9451 x				
ρ =		0,4898	0,0000	0,0000 x				
MCV nachher		0,0351	-0,2859	0,4430	0,2912 x			
ρ =		0,8799	0,2090	0,0443	0,2003 x			
MCH nachher		-0,1144	-0,2969	0,4678	0,2299	0,9309 x		
ρ =		0,6216	0,1912	0,0325	0,3161	0,0000 x		
MCHC nachher		-0,1808	-0,2805	0,3184	-0,0081	0,5247	0,7779 x	
ρ =		0,4328	0,2182	0,1596	0,9722	0,0146	0,0000 x	
Thrombozyten nachher		0,9145	-0,0244	-0,0205	0,0367	0,1003	-0,0682	-0,1653
ρ =		0,0000	0,9163	0,9298	0,8746	0,6652	0,7689	0,4739
GGT		-0,1720	0,3213	0,2551	0,2391	-0,1467	-0,0612	0,1083
ρ =		0,4559	0,1556	0,2644	0,2966	0,5258	0,7922	0,6402
Glucose		-0,0347	0,3576	0,3260	0,3707	0,0462	-0,0003	-0,0809
ρ =		0,8814	0,1115	0,1492	0,0981	0,8424	0,9988	0,7273
AST		-0,1505	-0,2716	-0,1946	-0,2582	-0,0377	0,0434	0,1583
ρ =		0,5149	0,2337	0,3980	0,2585	0,8711	0,8518	0,4932
ALT		-0,0630	0,0728	0,1688	0,1200	0,0397	0,0947	0,1740
ρ =		0,7862	0,7539	0,4645	0,6044	0,8644	0,6830	0,4506
Albumin		0,1705	0,0745	0,1267	0,1694	0,1659	0,0733	-0,1090
ρ =		0,4600	0,7482	0,5842	0,4629	0,4722	0,7521	0,6383
Gesamteiweiß		0,4294	0,0501	-0,1446	0,0058	-0,1001	-0,2565	-0,4461
ρ =		0,0520	0,8292	0,5317	0,9801	0,6660	0,2618	0,0426
Kreatinin		-0,3097	0,3727	0,5431	0,4946	0,2206	0,3125	0,2395
ρ =		0,1718	0,0961	0,0110	0,0226	0,3367	0,1678	0,2957
CRP		-0,3290	0,0567	-0,1976	-0,2402	-0,5130	-0,3125	0,0796
ρ =		0,1453	0,8072	0,3905	0,2942	0,0174	0,1679	0,7317
Sport		0,0282	0,2075	0,3908	0,4015	0,2944	0,2185	0,0385
ρ =		0,9033	0,3668	0,0799	0,0712	0,1951	0,3414	0,8684

	Thrombozyten nachher	GGT	Glucose	AST	ALT	Albumin	Gesamteiweiß	Kreatinin	CRP	Sport
MCH vorher										
p =										
MCHC vorher										
p =										
Thrombozyten vorher										
p =										
Erythrozyten nachher										
p =										
Hämoglobin nachher										
p =										
Hämatokrit nachher										
p =										
MCV nachher										
p =										
MCH nachher										
p =										
MCHC nachher										
p =										
Thrombozyten nachher	x									
p =	x									
GGT		0,0014 x								
p =		0,9951 x								
Glucose		0,1646	0,3235 x							
p =		0,4758	0,1526 x							
AST		-0,1776	0,1005	-0,2142 x						
p =		0,4412	0,6648	0,3512 x						
ALT		0,1759	0,4327	0,3794	0,5343 x					
p =		0,4456	0,0501	0,0899	0,0126 x					
Albumin		0,0278	-0,1061	0,0358	-0,3501	-0,2844 x				
p =		0,9049	0,6472	0,8776	0,1197	0,2114 x				
Gesamteiweiß		0,2847	0,0927	0,0411	-0,3946	-0,2988	0,7253 x			
p =		0,2110	0,6895	0,8594	0,0767	0,1882	0,0002 x			
Kreatinin		-0,2995	0,0674	-0,2956	0,0242	-0,1000	0,0185	-0,2297 x		
p =		0,1872	0,7715	0,1933	0,9169	0,6661	0,9367	0,3166 x		
CRP		-0,2801	0,2215	-0,2143	0,4560	0,1986	-0,6231	-0,4992	0,1412 x	
p =		0,2188	0,3347	0,3509	0,0378	0,3881	0,0026	0,0212	0,5416 x	
Sport		0,1837	0,0145	0,1426	-0,0316	-0,0180	-0,1412	-0,0095	0,2357	0,1031 x
p =		0,4254	0,9504	0,5374	0,8908	0,9382	0,5414	0,9674	0,3038	0,6564 x

7.1.3. Korrelationen der Albuminänderungen mit ausgewählten Meßwerten

	Änderung HMA	Änderung HNA-1	SpO ₂ nach 1 h	SpO ₂ nach 2 h	SpO ₂ -Differenz nach 1 h zum Ausgangswert	
Änderung HMA	x					
p =	x					
Änderung HNA-1	-0,9401	x				
p =	0,0000	x				
SpO ₂ nach 1 h	-0,3233	0,3367	x			
p =	0,1529	0,1356	x			
SpO ₂ nach 2 h	0,0135	0,0322	0,1657	x		
p =	0,9539	0,8898	0,4729	x		
SpO ₂ -Differenz nach 1 h zum Ausgangswert	-0,2801	0,2984	0,9879	0,1165	x	
p =	0,2187	0,1888	0,0000	0,6151	x	
SpO ₂ -Differenz nach 2 h zum Ausgangswert	0,0461	0,0065	0,1950	0,9882		0,1683
p =	0,8429	0,9777	0,3970	0,0000		0,4657
MDA vorher	0,1388	-0,1233	-0,2136	0,0694		-0,2402
p =	0,5486	0,5945	0,3526	0,7649		0,2943
MDA nacher	-0,2786	0,1918	-0,0332	-0,5772		-0,0342
p =	0,2214	0,4050	0,8863	0,0061		0,8830
MDA-Änderung	-0,3116	0,2301	0,0923	-0,5228		0,1065
p =	0,1692	0,3157	0,6905	0,0150		0,6458
GGT	-0,3231	0,3590	0,0731	-0,0537		0,0337
p =	0,1532	0,1100	0,7530	0,8173		0,8846
AST	-0,0370	0,1061	-0,0742	-0,3026		-0,8330
p =	0,8736	0,6472	0,7493	0,1824		0,7197
ALT	-0,0665	0,1977	0,2840	-0,1563		0,2571
p =	0,7745	0,3903	0,2121	0,4988		0,2606
Kreatinin	0,1353	-0,1911	-0,0798	-0,0306		-0,0832
p =	0,5588	0,4066	0,7308	0,8954		0,7201

	SpO ₂ -Differenz nach 2 h zum Ausgangswert	MDA vorher	MDA nacher	MDA-Änderung	GGT	AST	ALT	Kreatinin
Änderung HMA								
p =								
Änderung HNA-1								
p =								
SpO ₂ nach 1 h								
p =								
SpO ₂ nach 2 h								
p =								
SpO ₂ -Differenz nach 1 h zum Ausgangswert								
p =								
SpO ₂ -Differenz nach 2 h zum Ausgangswert	x							
p =	x							
MDA vorher	0,0368	x						
p =	0,8740	x						
MDA nacher	-0,5980	0,0202	x					
p =	0,0042	0,9307	x					
MDA-Änderung	-0,5219	-0,5458	0,8267	x				
p =	0,0152	0,0105	0,0000	x				
GGT	-0,0927	-0,1816	0,1137	0,1975	x			
p =	0,6893	0,4308	0,6236	0,3908	x			
AST	-0,3243	-0,1031	0,6718	0,6210	0,1005	x		
p =	0,1514	0,6566	0,0009	0,0027	0,6648	x		
ALT	-0,1784	0,1369	0,2396	0,1238	0,4327	0,5343	x	
p =	0,4390	0,5541	0,2955	0,5929	0,0501	0,0126	x	
Kreatinin	-0,0378	-0,0121	-0,1122	-0,0873	0,0674	0,0242	-0,1000	x
p =	0,8707	0,9586	0,6282	0,7069	0,7715	0,9169	0,6661	x

7.1.4. Erhebung von Geschlechterunterschieden

2-Stichproben T-Test

Männer (n = 14)

Frauen (n = 7)

d.f. = 19

Angegebene Einheiten gelten für die Mittelwerte und Standardabweichungen.

	Fläche HMA vorher	Fläche HNA-1 vorher	Fläche HNA-2 vorher	Fläche gesamt vorher
Mittelwert Männer	2390,9	538,9	61,3	2991,1
Standardabweichung Männer	259,9	48,4	34,4	280,9
Mittelwert Frauen	2210,7	439,5	39,2	2689,4
Standardabweichung Frauen	548,9	122,3	30,3	655,5
t =	1,04	2,7	1,44	1,5
p =	0,314	0,014	0,166	0,151

	HMA-Anteil vorher	HNA-1-Anteil vorher	HNA-2-Anteil vorher	Fläche HMA nachher
Mittelwert Männer	0,80	0,18	0,02	2378,0
Standardabweichung Männer	0,024	0,018	0,011	214,5
Mittelwert Frauen	0,82	0,16	0,01	2046,4
Standardabweichung Frauen	0,031	0,027	0,011	472,4
t =	1,96	1,72	1,29	2,24
p =	0,065	0,102	0,213	0,037

	Fläche HNA-1 nachher	Fläche HNA-2 nachher	Fläche total nachher	HMA-Anteil nachher
Mittelwert Männer	585,9	67,1	3031,0	0,78
Standardabweichung Männer	101,4	24,8	232,9	0,032
Mittelwert Frauen	461,7	45,5	2553,7	0,80
Standardabweichung Frauen	120,0	30,4	582,4	0,029
t =	2,49	1,75	2,71	1,19
p =	0,022	0,097	0,014	0,248

2-Stichproben T-Test

Männer (n = 14)

Frauen (n = 7)

d.f. = 19

Angegebene Einheiten gelten für die Mittelwerte und Standardabweichungen.

	HNA-1-Anteil nachher	HNA-2-Anteil nachher	Änderung HMA-Anteil	Änderung HNA-1-Anteil
Mittelwert Männer	0,19	0,02	-0,014	0,012
Standardabweichung Männer	0,031	0,008	0,027	0,028
Mittelwert Frauen	0,18	0,02	-0,021	0,018
Standardabweichung Frauen	0,029	0,011	0,011	0,013
t =	0,84	1,31	0,60	0,46
p =	0,411	0,206	0,558	0,650

	Änderung HNA-2-Anteil	Leukozyten vorher {G/L}	Leukozyten nachher {G/L}	Änderung Leukozyten {G/L}
Mittelwert Männer	0,002	5,7	7,5	1,8
Standardabweichung Männer	0,010	1,4	2,2	1,4
Mittelwert Frauen	0,003	7,2	7,2	-0,1
Standardabweichung Frauen	0,004	1,6	1,1	1,1
t =	0,33	2,13	0,38	3,05
p =	0,745	0,047	0,708	0,007

	SpO ₂ vorher {%	SpO ₂ nach 1 h {%	SpO ₂ nach 2 h {%	SpO ₂ nach 3 h {%
Mittelwert Männer	98,1	78,2	78,3	79,8
Standardabweichung Männer	0,4	4,2	3,4	2,3
Mittelwert Frauen	97,9	78,9	79,1	79,7
Standardabweichung Frauen	0,9	2,3	4,8	4,7
t =	1,05	0,37	0,48	0,05
p =	0,307	0,712	0,640	0,963

2-Stichproben T-Test

Männer (n = 14)

Frauen (n = 7)

d.f. = 19

Angegebene Einheiten gelten für die Mittelwerte und Standardabweichungen.

	SpO ₂ -Differenz nach 1 h zum Beginn {%	SpO ₂ -Differenz nach 2 h zum Beginn {%
Mittelwert Männer	-19,9	-19,9
Standardabweichung Männer	4,3	3,2
Mittelwert Frauen	-19	-18,7
Standardabweichung Frauen	2,6	4,7
t =	0,52	0,66
p =	0,607	0,518

	SpO ₂ -Differenz nach 3 h zum Beginn {%	MDA vorher {nmol/mL}
Mittelwert Männer	-18,4	1,4
Standardabweichung Männer	2,3	0,25
Mittelwert Frauen	-18,1	1,4
Standardabweichung Frauen	4,5	0,35
t =	0,15	0,11
p =	0,886	0,911

	MDA nachher {nmol/mL}	Änderungen MDA {nmol/mL}
Mittelwert Männer	1,5	0,1
Standardabweichung Männer	0,45	0,49
Mittelwert Frauen	1,6	0,2
Standardabweichung Frauen	0,37	0,53
t =	0,51	0,49
p =	0,615	0,628

2-Stichproben T-Test

Männer (n = 14)

Frauen (n = 7)

d.f. = 19

Angegebene Einheiten gelten für die Mittelwerte und Standardabweichungen.

	Erythrozyten vorher {T/L}	Hämoglobin vorher {g/dL}	Hämatokrit vorher {%}	MCV vorher {fL}
Mittelwert Männer	4,9	14,8	42,9	87,9
Standardabweichung Männer	0,2	0,4	1,4	2,7
Mittelwert Frauen	4,6	13,2	39,0	85,5
Standardabweichung Frauen	0,3	0,5	1,4	4,3
t =	2,41	8,40	5,98	1,63
p =	0,026	0	0	0,120

	MCH vorher {pg}	MCHC vorher {g/dL}	Thrombozyten vorher {G/L}	Erythrozyten nachher {T/L}
Mittelwert Männer	30,4	34,5	255,5	5,0
Standardabweichung Männer	1,3	0,6	52,2	0,2
Mittelwert Frauen	28,7	33,6	289,1	4,6
Standardabweichung Frauen	2,0	1,1	48,5	0,3
t =	2,25	2,53	1,42	2,64
p =	0,036	0,020	0,17	0,016

	Hämoglobin nachher {g/d}	Hämatokrit nachher {%}	MCV nachher {fL}	MCH nachher {pg}
Mittelwert Männer	15,0	43,7	87,7	30,3
Standardabweichung Männer	0,6	2,1	2,5	1,0
Mittelwert Frauen	13,3	39,2	84,8	28,7
Standardabweichung Frauen	0,6	1,4	4,1	2,1
t =	6,59	5,01	2,02	2,34
p =	0	0	0,057	0,030

2-Stichproben T-Test

Männer (n = 14)

Frauen (n = 7)

d.f. = 19

Angegebene Einheiten gelten für die Mittelwerte und Standardabweichungen.

	MCHC nachher {g/dL}	Thrombozyten nachher {G/L}	GGT {U/L}	Glucose {mg/dL}
Mittelwert Männer	34,4	269,4	21,1	98,9
Standardabweichung Männer	0,6	57,0	7,7	15,4
Mittelwert Frauen	33,8	285,1	16	86,6
Standardabweichung Frauen	1,1	31,5	6,1	12,5
t =	1,69	0,67	1,51	1,82
p =	0,108	0,508	0,146	0,084

	AST {U/L}	ALT {U/L}	Albumin {g/dL}	Gesamteiweiß {g/dL}
Mittelwert Männer	21,9	21,8	4,9	7,3
Standardabweichung Männer	5,4	7,6	0,2	0,3
Mittelwert Frauen	22,4	18	4,8	7,4
Standardabweichung Frauen	6,3	7,2	0,4	0,6
t =	0,19	1,10	1,20	0,67
p =	0,852	0,286	0,245	0,512

	Kreatinin {mg/dL}	CRP {mg/dL}	Sport {h/Woche}
Mittelwert Männer	0,96	0,06	7,9
Standardabweichung Männer	0,12	0,05	4,9
Mittelwert Frauen	0,81	0,09	6,1
Standardabweichung Frauen	0,08	0,09	3,2
t =	3,08	0,71	0,91
p =	0,006	0,486	0,377

7.2. Dokumente:

Aufklärungsblatt

Einverständniserklärung

Anamnesefragebogen

Ethikkommissionsvotum

7.2.1. Aufklärungsblatt

Informationsblatt für Probandinnen und Probanden für die Pilotstudie:

Änderungen des Redoxzustandes¹ von humanem Serumalbumin² während einer normobaren Hypoxie³

Sehr geehrte Probandin, sehr geehrter Proband!

Es freut uns, dass Sie sich für die Teilnahme an dieser Studie interessieren. Für eine solche Teilnahme ist die schriftliche Einverständniserklärung einer jeden Probandin und eines jeden Probanden Pflicht. Wir bitten Sie daher, dieses Informationsblatt aufmerksam durchzulesen. Es ist wichtig, dass Sie alles verstehen, was auf diesem Informationsblatt vermerkt ist. Zögern Sie nicht die anwesenden Betreuungspersonen zu fragen, sollte es irgendwelche Unklarheiten geben.

Die Studie

Die Studie untersucht den Redoxzustand (eine bestimmte chemische Konfiguration von Molekülen) von Serumalbumin (ein Eiweißstoff im menschlichen Blut), wenn eine Person einer Atmosphäre mit vermindertem Sauerstoffgehalt ausgesetzt ist. Eine solche Atmosphäre kann in Graz in einer sogenannten Hypoxiekammer erzeugt werden. Dabei wird der Luftdruck auf Normalniveau gehalten und ein Teil des Sauerstoffs aus der Atemluft durch Stickstoff ersetzt. Die Bedingungen ähneln nun in vielen Aspekten jenen, wie sie in großen Höhen auftreten können.

Die Probandinnen und Probanden in dieser Studie werden sich für etwa 4 Stunden in der Hypoxiekammer in Graz aufhalten. Der Sauerstoffgehalt der Luft wird dabei auf 11,5 % bis 12 % abgesenkt, was etwa einer Höhe von 5000 m über dem Meeresspiegel entspricht. Jeweils vor dem Betreten der Kammer und unmittelbar nach dem Verlassen derselben wird ihnen Blut aus einer Vene abgenommen. Insgesamt werden etwa 16 mL Blut

¹ Der Redoxzustand ist eine bestimmte chemische Konfiguration von Molekülen. Dieser Zustand ist definiert über die Aufnahme oder Abgabe von Elektronen (einer bestimmten Art von Elementarteilchen). Bei bestimmten Vorgängen im Körper (Stress, Sport, Sauerstoffmangel,...), kann sich die Verteilung dieser chemischen Zustände verschieben.

² Bei humanem Serumalbumin handelt es sich um das häufigste Eiweißmolekül im menschlichen Blut.

³ Normobare Hypoxie beschreibt einen Zustand der Atmosphäre. Der Luftdruck bleibt jener wie er in etwa auf Meeressniveau vorherrscht, aber der Sauerstoffgehalt der Atemluft wird reduziert. Somit entsteht ein Zustand, der jenen in großen Höhen ähnelt.

(entspricht etwa 2 Esslöffeln) abgenommen. Aus diesem Blut werden verschiedene Werte bestimmt. Besonders der Redoxzustand des Albumins wird eingehend untersucht. Es wurde bereits mehrmals in anderen wissenschaftlichen Arbeiten beschrieben, dass es bei einem Aufenthalt in hypoxischer Atmosphäre (Atmosphäre mit vermindertem Sauerstoffgehalt) zu einem bestimmten Stoffwechszustand kommt, welcher als oxidativer Stress bezeichnet wird. Im Zuge der Studie wird versucht, das Auftreten und das Ausmaß dieses Zustandes anhand des Redoxzustandes von Albumin zu messen. Es kann allerdings auch bei verschiedenen Erkrankungen und Situationen zu veränderten Verhältnissen des Redoxzustandes von Albumin kommen. Um die Qualität der Studie zu gewährleisten und um vermeidbaren Komplikationen (wie sie etwa bei bestimmten Krankheiten vorkommen können) vorzubeugen, gibt es bestimmte Ausschlusskriterien, bei deren Vorliegen nicht an der Studie teilgenommen werden kann.

Zu diesen Ausschlusskriterien zählen:

- Lebererkrankungen
- Nierenerkrankungen
- Lungenerkrankungen
- Herz- und Gefäßerkrankungen
- arterieller Hochdruck (Bluthochdruck)
- maligne Erkrankungen (Krebs oder Leukämie)
- Schwangerschaft
- Autoimmunerkrankungen
- Diabetes mellitus (Zuckerkrankheit)
- akute oder chronische Infektionen
- extreme Ernährungsformen (vegan, spezielle Diäten oder Ähnliches)
- Tabakkonsum
- kürzlich durchgemachte Höhenakklimatisation

Mögliche Beschwerden und Risiko

Durch den Aufenthalt können bei den Probandinnen und Probanden verschiedene Beschwerden auftreten, welche allerdings nicht als gefährlich einzustufen sind. Zu diesen Beschwerden zählen Müdigkeit und Leistungsabfall, Kopfschmerzen, Schwindel und Übelkeit sowie auch eine Beschleunigung der Atmung. Sollte sich eine Probandin oder ein Proband unwohl fühlen oder sollten schwere Symptome auftreten, so kann die

Hypoxiekammer jederzeit verlassen werden. Alle Symptome sollten dann, sofern sie durch die Hypoxie (Sauerstoffmangel) bedingt sind, innerhalb von wenigen Minuten verschwinden. Mit mittel- oder langfristigen Beschwerden ist nicht zu rechnen. Die beiden venösen Blutabnahmen sind ärztliche Routinemaßnahmen und sind nur mit einem sehr geringen Risiko behaftet. Gelegentliche Komplikationen sind die Fehlpunktion, welche eine weitere Venenpunktion erfordert, und das Auftreten von Hämatomen (Blutergüsse) im Bereich der Einstichstelle.

Sollte nach dem Lesen dieses Aufklärungsbogens irgendwelche Fragen aufgetreten sein, zögern Sie nicht die Betreuungspersonen darauf anzusprechen. Sollten Sie sich gegen eine Teilnahme an der Studie entschieden haben, teilen Sie das bitte einer Betreuungsperson mit. Sollten Sie sich für die Teilnahme an der Studie entschieden haben, bitten wir Sie die beiliegende Einverständniserklärung zu unterzeichnen. Diese Einverständniserklärung kann von Ihnen jederzeit und ohne Angabe von Gründen widerrufen werden. Es entstehen Ihnen in diesem Fall keinerlei Nachteile. Die Einverständniserklärung verbleibt bei der Studienleitung, das vorliegende Informationsblatt verbleibt bei Ihnen. Als Anerkennung für Ihre Bemühungen und als Entschädigung für den Zeitaufwand werden Sie im Anschluss an den Versuch von der Studienleitung zu einem Essen eingeladen.

7.2.2. Einverständniserklärung

Einverständniserklärung für Probandinnen und Probanden für die Pilotstudie:

Änderung des Redoxzustandes von humanem Serumalbumin während einer normobaren Hypoxie

Ich habe ein Informationsblatt für Probandinnen und Probanden zur oben genannten Studie erhalten, dieses gelesen und verstanden. Möglicherweise aufgetretene Fragen meinerseits wurden von den zuständigen Betreuungspersonen ausreichen und verständlich beantwortet. Mit meiner Unterschrift auf dieser Einverständniserklärung stimme ich der zweizeitigen Entnahme von insgesamt 16 mL Blut (einmal 12 mL vor dem Aufenthalt in der Hypoxiekammer und einmal 4 mL danach) sowie meiner Exposition in normobarer hypoxischer Atmosphäre (Absenkung des Sauerstoffgehalts in der Atemluft in der Hypoxiekammer) zu.

Ich kann diese Einverständniserklärung jederzeit und ohne Angabe von Gründen zurückziehen. Alle gesammelten Daten und Blutproben werden in diesem Fall vernichtet.

(Name der Probandin/des Probanden)

(Unterschrift der Probandin/des Probanden)

Graz, am _____

(Datum)

7.2.3. Anamnesefragebogen

Anamnesefragebogen

Name: _____

Vorname: _____

Geburtsdatum: _____

Körpergröße: _____ cm

Körpergewicht: _____ kg

Geschlecht: m w

Nummer: _____

Vielen Dank, dass Sie sich entschlossen haben, an dieser Studie teilzunehmen. Der vorliegende Fragebogen dient dazu, die bei Ihnen gemessenen Ergebnisse besser zu interpretieren und trägt somit entscheidend zur Qualität der Studie bei. Wir bitten Sie daher, die Fragen möglichst vollständig und wahrheitsgetreu zu beantworten. Die mit dem Fragebogen erhobenen Daten und Informationen werden nur im Zuge der Studie verwendet und unterliegen natürlich der Verschwiegenheitspflicht.

1. Fühlen Sie sich gesund? Ja Nein
Wenn nein, warum nicht? _____
2. Rauchen Sie? Ja Nein
Wenn ja, wie viele Zigaretten am Tag? _____
3. Trinken Sie Alkohol? Ja Nein
Wenn ja, wie oft? (Bitte ankreuzen)
1x pro Woche 2-3x pro Woche öfter als 3x pro Woche täglich
4. Nehmen Sie andere Drogen? Ja Nein
5. Nehmen Sie regelmäßig Medikamente ein? Ja Nein
Wenn ja, welche? _____
6. Haben Sie in den letzten 48 Stunden (andere) Medikamente eingenommen?
Ja Nein
Wenn ja, welche? _____
7. Nehmen Sie Nahrungsergänzungsmittel ein? Ja Nein
Wenn ja, welche? _____
8. Wurde bei Ihnen jemals eine Erkrankung von Herz, Blutgefäßen, Lunge, Atemwegen, Leber, Niere, Bauchspeicheldrüse oder Stoffwechsel diagnostiziert? Ja Nein

- Wenn ja, welche? _____
9. Leiden Sie an einer anderen Erkrankung? Ja Nein
- Wenn ja, welche? _____
10. Haben oder hatten Sie jemals Krebs oder Blutkrebs (Leukämie)? Ja Nein
- Wenn ja, welchen? _____
11. Leiden Sie an einer Allergie oder einer Autoimmunerkrankung? Ja Nein
- Wenn ja, welche? _____
12. Leiden Sie an Diabetes („Zuckerkrankheit“)? Ja Nein
13. Leiden Sie an einer akuten oder chronischen Infektion? Ja Nein
- Wenn ja, welche? _____
14. Leiden Sie an einer akuten oder chronischen Entzündung? Ja Nein
- Wenn ja, welche? _____
15. Leben Sie nach einer bestimmten Ernährungsform (z.B. vegetarisch)? Ja Nein
- Wenn ja, welche? _____
16. Haben Sie sich im vergangenen Jahr an eine große Höhe akklimatisiert? Ja Nein
- Wenn ja, wann und wo? _____
17. Sind Sie körperlich aktiv? (Dazu zählen Tätigkeiten wie Sport, berufsbedingte Bewegung, Fahrradfahren, etc. welche zumindest einer leichten körperliche Anstrengung bedürfen.)
Ja Nein
- Wenn ja, was und wie viele Stunden pro Woche? _____
- _____
18. Was arbeiten/studieren Sie? (Bitte auch Nebenjobs angeben.) _____
- _____
19. Waren Sie im letzten Monat in ärztlicher Behandlung? Ja Nein
- Wenn ja, warum? _____
20. Haben Sie in den letzten 2 Wochen Blut gespendet? Ja Nein

Für Frauen:

21. Sind Sie derzeit schwanger? Ja Nein
22. Benutzen Sie hormonelle Verhütungsmethoden (z.B. „die Pille“)? Ja Nein

Ich habe den vorliegenden Fragebogen wahrheitsgemäß ausgefüllt.

Graz, am _____

(Datum)

(Unterschrift des Probanden/der Probandin)

7.2.4. Ethikkommissionsvotum

Ethikkommission



Medizinische Universität Graz

Auenbruggerplatz 2, A-8036 Graz
ethikkommission@medunigraz.at
Tel.: +43 / 316 / 385-13928, Fax: -14348

VOTUM

gültig bis 05.05.2016

EK-Nummer: 27-285 ex 14/15
Studientitel: Pilot study: Changes of the redox state of human serum albumin during normobaric hypoxia
Prüfer: Ao.Univ.-Prof. Dr.med.univ. Wolfgang Domej
Institut für Physiologische Chemie (Medizinische Universität Graz)
Sponsor: Medizinische Universität Graz
Ansprechpartner: Ao.Univ.-Prof. Mag. Dr.rer.nat Karl Öttl, A-8036 Graz, Auenbruggerplatz 2
CRO: -
Antragsteller: Institut für Physiologische Chemie der Medizinischen Universität Graz
Ansprechpartner: Johannes Holzinger, 8010 Graz, Moserhofgasse 20/6

Die o.a. Studie wurde von der Ethikkommission erstmals im 'expedited Review' am 01.04.2015 behandelt. Die Ethikkommission ist zu folgendem Schluss gekommen:

Es besteht kein Einwand gegen die Durchführung der Studie in der vorliegenden Form.

Kommissionsmitglieder, die für diesen Tagesordnungspunkt als befangen anzusehen waren und daher gemäß Geschäftsordnung an der Entscheidungsfindung und Abstimmung nicht teilgenommen haben: keine

Zur Beurteilung vorliegende Dokumente:

Dokumente eingegangen am 25.03.2015, begutachtet im 'expedited Review' am 01.04.2015

✓ Cover Letter Begleitschreiben_Holzinger 1.1	16.03.2015
✓ Antragsformular ECS	25.03.2015
Originalprotokoll Studienprotokoll_Holzinger 1.1	10.03.2015
Informed Consent Form Informationsblatt_Holzinger 1.1	15.03.2015
✓ Sonstiges: Anamnesefragebogen_Holzinger 1.1	15.03.2015
✓ Sonstiges: Einverständniserklärung_Holzinger 1.1	15.03.2015

Dokumente eingegangen am 27.03.2015, begutachtet im 'expedited Review' am 01.04.2015

✓ Antragsformular ECS Unterschriftenseiten	26.03.2015
--	------------

Dokumente eingegangen am 23.04.2015 (in der nächsten Begutachtung mitbegutachtet)

✓ Antragsformular ECS Unterschriftenseiten (Teil B, Leiter)	23.04.2015
---	------------

Dokumente eingegangen am 24.04.2015, begutachtet im 'expedited Review' am 05.05.2015

✓ Cover Letter	24.04.2015
✓ Originalprotokoll 2	23.04.2015
✓ Informed Consent Form 2	23.04.2015

Die Ethikkommission geht - rechtlich unverbindlich - davon aus, dass es sich um keine klinische Prüfung nach AMG bzw. MPG handelt.

Es handelt sich um eine Studie im Rahmen einer Diplomarbeit.

Das Votum der Ethikkommission berührt in keiner Weise die alleinige Verantwortung der Prüferin / des

EK-Nummer: 27-285 ex 14/15

Votum (05.05.2015)

Seite 1 von 2

Medizinische Universität Graz, Auenbruggerplatz 2, A-8036 Graz. www.medunigraz.at

Rechtsform: Juristische Person öffentlichen Rechts gem. Universitätsgesetz 2002. Information: Mitteilungsblatt der Universität und www.medunigraz.at. DVR-Nr. 210 9494. UID: ATU 575 111 79. Bankverbindung: Bank Austria Creditanstalt BLZ 12000 Konto-Nr. 500 948 400 04, Raiffeisen Landesbank Steiermark BLZ 38000 Konto-Nr. 49510.

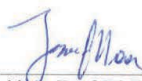
Prüfers / der Prüfer für die ordnungsgemäße Durchführung der Studie unter Einhaltung aller einschlägiger gesetzlicher Bestimmungen und Richtlinien.

Weiters machen wir darauf aufmerksam, dass der Kommission unverzüglich zu melden sind:

- Abweichungen vom Protokoll aus Sicherheitsgründen oder Protokolländerungen
- Änderungen, die das Risiko der Teilnehmer/-innen erhöhen oder die Durchführung der Studie wesentlich beeinflussen
- Mutmaßliche unerwartete schwerwiegende Nebenwirkungen - SUSARs (AMG-Studien ab 1.5.2004) oder schwerwiegende unerwünschte Ereignisse - SAEs (andere Studien)
- Jegliche Information über sonstige Umstände, die die Sicherheit der Teilnehmer/-innen oder die Durchführung der Studie beeinträchtigen können

Dieses Votum gilt für ein Jahr ab dem Datum der Ausstellung. Bei längerer Studiendauer ist rechtzeitig vor Ablauf der Gültigkeit des Votums ein Zwischenbericht vorzulegen (Berichtsformular), um eine etwaige Verlängerung zu erlangen.

Graz, 05. Mai 2015



Univ.Prof.DI Dr.Josef Haas
Vorsitzender



i. V. Univ.Prof.DDr.Hans-Peter Kapfhammer
Stv. Vorsitzender

Achtung: Bitte bei allen das Projekt betreffende Schreiben oder telefonischen Anfragen die EK-Nummer angeben!