

Aus dem Institut für molekulare Pathogenese des Friedrich-Loeffler-Instituts,
Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit, Standort Jena

eingereicht über das

Institut für Veterinär-Physiologie des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Untersuchung zu Inhaltsstoffen des Atemkondensates beim Kalb

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Claudia Schröder
Tierärztin
aus Potsdam/Babelsberg

Berlin 2006
Journal Nr.:3046

Gedruckt mit Genehmigung
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Leo Brunnberg

1. Gutachter: PD Dr. Dr. P. Reinhold

2. Gutachter: Prof. Dr. H. Hartmann

3. Gutachter: Prof. Dr. A. Gillisen

Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus): respiratory diseases, inflammation, breath, condensates, bronchoalveolar lavage, respiration, lung function, animal models, calves

Tag der Promotion: 29.09.06

Für meine Familie.

Verzeichnis wichtiger Abkürzungen

a.i. = *ante infectionem*

AKO = Atemkondensat

ARDS = akutes Lungenversagen
(acute respiratory distress syndrome)

ASL = Flüssigkeitsschicht der Atemwege
(airway surface layer)

ATS = American Thoracic Society

BALF = broncho-alveoläre Spülflüssigkeit
(broncho-alveolar lavage fluid)

BRSV = Bovines Respiratorisches
Syncytialvirus

BVD/MD = Bovine-Virus-Diarrhoe/Mucosal
Disease

C. = *Chlamydia*

CFTR = cystic fibrosis conductance
regulator

CO₂ = Kohlendioxid

COPD = Chronisch obstruktive
Lungenerkrankung (chronic obstruktive
pulmonary disease)

DNA = Desoxyribonukleinsäure

ERS = European Respiratory Society

FLI = Friedrich-Loeffler-Institut

IFN γ = Interferon gamma

IG = Immunglobulin

IL = Interleukin

NOS = Stickoxidsynthase

KM = Körpermasse

KoA = Kottausstrich

KoT = Kottupfer

LTB₄ = Leukotrien B₄

M. = *Mycoplasma*

MMP = Metalloproteinase

mRNA = messenger Ribonukleinsäure

NaT = Nasentupfer

NF κ B = Nuclear factor kappa B

NH₃/ NH₄⁺ = Ammoniak/Ammonium

NO = Stickstoffmonoxid

NO₂⁻ = Nitrit

NO₃ = Nitrat

p = Irrtumswahrscheinlichkeit

P = Partialdruck

PCL = Periziliäre Flüssigkeitsschicht
(periciliar lining fluid)

PCR = Polymerase-Kettenreaktion
(polymerase chain reaction)

PGF₂ α = Prostaglandin F₂ alpha

PGH₂ = Prostaglandin H₂

pH = Protonen-Konzentration

p.i. = *post infectionem*

RNS = radikale Stickstoffspezies

ROS = radikale Sauerstoffspezies

spp. = Subspezies

TGF β = transforming growth factor beta)

TIMP = Metalloproteinasen- Inhibitor
(tissue inhibitor metalloproteinase)

TNF α = Tumor Nekrose Faktor alpha

UA = Untersuchungsabschnitt

VOC = flüchtige organische Marker
(volatile organic compounds)

Inhaltsverzeichnis

1.	<u>Einleitung und Zielstellung</u>	8
2.	<u>Literaturübersicht</u>	9
2.1	Nutzung der Ausatemluft als diagnostisches Medium	9
2.1.1	Geschichtlicher Rückblick	9
2.1.2	Differenzierung zwischen Atemgas- und Atemkondensat (AKO)-Analyse	9
2.1.3	Bedeutung der AKO-Diagnostik in der Humanmedizin	10
2.1.4	Stand der AKO-Untersuchungen in der Veterinärmedizin	11
2.2	Beschreibung der untersuchten Inhaltsstoffe im Atemkondensat	11
2.2.1	Proteine	11
2.2.2	Mediatoren der Arachidonsäure	14
2.2.2.1	8-Isoprostan	14
2.2.2.2	Leukotrien B ₄	17
2.2.2.3	Weitere Parameter der Lipidperoxidation und des oxidativen Stress	20
2.2.3	Stickstoff-haltige Mediatoren	22
2.2.3.1	Nitrit, NO	22
2.2.3.2	Harnstoff	26
2.2.3.3	Ammonium	28
2.2.4	pH-Wert	30
2.3	Gewinnung von Atemkondensat	35
2.3.1	Sammelgeräte zur AKO-Gewinnung	35
2.3.2	Standardisierung der AKO-Gewinnung	36
3.	<u>Eigene Untersuchungen</u>	38
3.1	Tiere	38
3.1.1	Untersuchungsabschnitt 1: Klinisch gesunde Kälber	38
3.1.2	Untersuchungsabschnitt 2: Kälber mit natürlich erworbener <i>Chlamydia-psittaci</i> -Infektion	38
3.1.3	Untersuchungsabschnitt 3: Kälber mit experimentell induzierter <i>Mycoplasma-bovis</i> -Infektion	39
3.1.4	Haltung und Fütterung	39
3.2	Versuchsanordnungen	40
3.2.1	Untersuchungsabschnitt 1	40
3.2.2	Untersuchungsabschnitt 2	40
3.2.3	Untersuchungsabschnitt 3	41
3.3	Klinische Untersuchung (Untersuchungsabschnitte 1 - 3)	42

3.4	Infizierung (Untersuchungsabschnitt 3)	42
3.5	Sektion (Untersuchungsabschnitte 1 - 3)	43
3.6	<i>In vivo</i> gewonnenes Probenmaterial (Untersuchungs- abschnitte 1 - 3)	44
3.7	<i>Ex vivo</i> gewonnenes Probenmaterial (Untersuchungs- abschnitte 1 - 3)	45
3.8	Biochemische Untersuchungsmethoden	46
3.8.1	pH-Wert.....	46
3.8.2	Konzentrationsbestimmungen der AKO-Inhaltsstoffe.....	46
3.8.3	Berechnung der Entzündungsmediator-Konzentration je..... 100 Liter Exhalat	48
3.9	Erregernachweis und Differentialdiagnostik	48
3.10	Datenverarbeitung und mathematisch statistische Auswertung	49
4.	<u>Ergebnisse</u>	51
4.1	Klinisch gesunde Kälber (UA 1)	51
4.1.1	Kenngrößen der AKO-Gewinnung.....	51
4.1.2	Physiologische Konzentrationen der untersuchten AKO-..... Inhaltsstoffe	52
4.2	Natürlich erworbenene Infektion mit <i>Chlamydia psittaci</i> (UA 2)	67
4.2.1	Vergleich der Kenngrößen der Kondensatgewinnung.....	67
4.2.2	Vergleich der Konzentrationen der untersuchten AKO-..... Inhaltsstoffe	68
4.3	Experimentell induzierte Infektion mit <i>Mycoplasma bovis</i> (UA 3)	74
4.3.1	Vergleich der Kenngrößen der Kondensatgewinnung.....	74
4.3.2	Vergleich der Konzentrationen der untersuchten AKO-..... Inhaltsstoffe	74
4.4	Korrelationen untersuchter Inhaltsstoffe innerhalb des Atemkondensates	76
5.	<u>Diskussion</u>	78
5.1	Standardisierung der AKO-Gewinnung	78

5.1.1	Abhängigkeit des AKO-Volumens von der Sammelzeit und dem exhalierten Volumen	78
5.1.2	Abhängigkeit der AKO-Inhaltsstoffe von AKO-Volumen und Exhalat-Volumen	79
5.2	Interpretation der Inhaltsstoffe bezüglich ihrer biologischen Bedeutung	80
5.2.1	Proteine	80
5.2.2	8-Isoprostan	83
5.2.3	Leukotrien B ₄	85
5.2.4	Nitrit	86
5.2.5	Harnstoff	88
5.2.6	Ammonium	90
5.2.7	pH-Wert	93
5.3	Korrelation der untersuchten Inhaltsstoffe	95
5.3.1	Physiologische Zusammenhänge zwischen den Untersuchungsmethoden AKO; BALF und Serum	95
5.3.2	Korrelationen zwischen den im AKO untersuchten Inhaltsstoffen	96
5.4	Fragestellungen für weiterführende Arbeiten	102
5.4.1	Methodische Aspekte	102
5.4.2	Biologische Aspekte	105
6.	<u>Zusammenfassung /Summary</u>	107/110
7.	<u>Literaturverzeichnis</u>	113

Anhang

Danksagung
Tabellarischer Lebenslauf
Eidesstattliche Erklärung