

# Neuere Ergebnisse der Entwicklung und Anwendung von <sup>13</sup>C–Atemtests

Klaus Wetzel und Heinz Fischer  
Fischer ANalysen Instrumente GmbH (FAN), Leipzig

© Fischer Analysen Instrumente GmbH  
Brahestraße 25-27 • 04347 Leipzig  
Bundesrepublik Deutschland

Tel.: +49 341 24450 0 • Fax: +49 341 24450 22  
Email: fan@fan-gmbh.de

Adressen der Autoren:

Prof. Dr. Dr. Klaus Wetzel  
Schaddeler Dreieck 12  
04668 Großbothen

Dr. Heinz Fischer  
Brahestraße 25-27  
04347 Leipzig

## HINWEIS

Bei der Erarbeitung von Text, Tabellen und Abbildungen wurde mit größter Sorgfalt vorgegangen. Fehler können trotzdem nicht ausgeschlossen werden. Die Fischer Analysen Instrumente GmbH kann für fehlerhafte Angaben und deren Folgen weder eine juristische noch irgendeine andere Haftung übernehmen. Für Verbesserungsvorschläge und Hinweise auf Fehler sind die Autoren dankbar.

Die gewerbliche Nutzung der in diesem Büchlein gezeigten Modelle und Projekte ist nicht zulässig. Ohne die schriftliche Zustimmung der Fischer Analysen Instrumente GmbH darf dieses Buch weder vollständig noch teilweise fotokopiert, vervielfältigt oder in eine andere Sprache übersetzt werden.

1. Auflage  
Drucklegung: Dezember 1999

© Copyright Fischer Analysen Instrumente GmbH

## Vorwort

Die Tracertechnik mit stabilen Isotopen hat heute in der medizinischen Forschung und Diagnostik weite Verbreitung gefunden. Angesichts der Schlüsselrolle des Kohlenstoffs in der belebten Natur ist es nicht verwunderlich, daß die Markierung dieses Elements dabei im Vordergrund steht. In den Fällen, wo der zu untersuchende Stoffwechselfvorgang zur Bildung von Kohlendioxid führt, gestaltet sich die Probennahme für die Isotopenanalyse besonders einfach, indem der Proband seine Atemluft in einen Beutel oder in ein Röhrchen bläst. Die Zahl der Publikationen über solche  $^{13}\text{C}$ -Atemtests, gegenwärtig über 100 pro Jahr, ist im raschen Wachsen begriffen. Die letzte zusammenfassende Darstellung dieser Tests findet sich in einer Monographie aus dem Jahre 1991. Unsere Broschüre soll deshalb den Fortschritt der letzten etwa zehn Jahre auf dem Gebiete der  $^{13}\text{C}$ -Atemtests darstellen, und zwar sowohl hinsichtlich der instrumentellen Techniken und der Methodik der Auswertung als auch im Hinblick auf die biochemischen, medizinischen und klinischen Aspekte. Herrn Prof. Dr. med. habil. Wolfgang Hartig danken wir für anregende Diskussionen, die kritische Durchsicht des Manuskripts und viele helfende Hinweise.

Die Autoren

## INHALTSVERZEICHNIS

<b>1. Grundlagen .....</b>	<b>5</b>
<i>1.1. Das Wesen der <sup>13</sup>C–Atemtests.....</i>	<i>12</i>
<i>1.2. Terminologie der Traceruntersuchungen mit stabilisotop markierten Verbindungen .....</i>	<i>16</i>
<i>1.3. Methodik der Auswertung von Tracerexperimenten in der Medizin .....</i>	<i>18</i>
<b>2. Fortschritte bei der Bereitstellung von Substraten für <sup>13</sup>C–Atemtests .....</b>	<b>22</b>
<b>3. Fortschritte bei den analytischen Techniken für <sup>13</sup>C–Atemtests.....</b>	<b>23</b>
<i>3.1. Verabreichung des Substrats, Probennahme und Probenaufbereitung .....</i>	<i>23</i>
<i>3.2. Massenspektrometrische Analysatoren .....</i>	<i>23</i>
<i>3.3. Optisch–spektrometrische Analysatoren .....</i>	<i>23</i>
<i>3.4. Automatisierung.....</i>	<i>29</i>
<b>4. Fortschritte bei der Anwendung von <sup>13</sup>C–Atemtests in der medizinischen Forschung und Diagnostik.....</b>	<b>30</b>
<i>4.1. Methodologische Fortschritte.....</i>	<i>30</i>
4.1.1. Allgemeine Fortschritte auf dem Gebiete der <sup>13</sup> C–Atemtests.....	30
4.1.2. <sup>13</sup> C–Atemtests mit neuen Substraten.....	39
4.1.3. Neue Anwendungsmöglichkeiten von <sup>13</sup> C–Atemtests .....	40
4.1.4. Modifizierte <sup>13</sup> C–Atemtests .....	42
<i>4.2. Neuere Ergebnisse der Anwendung von <sup>13</sup>C–Atemtests .....</i>	<i>44</i>
<b>5. Die Zukunft der <sup>13</sup>C–Atemtests .....</b>	<b>48</b>
<i>5.1. Entwicklungen auf dem Gebiete der Meßtechnik.....</i>	<i>48</i>
<i>5.2. Entwicklungen auf dem Gebiete der Bereitstellung der Substrate .....</i>	<i>48</i>
<i>5.3. Entwicklungen auf dem Gebiete der Verabreichung der Substrate.....</i>	<i>49</i>
<i>5.4. Entwicklungen auf dem Gebiete der Beprobung.....</i>	<i>49</i>
<i>5.5. Entwicklung der Anwendungsgebiete .....</i>	<i>50</i>
<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>52</b>

## 1. Grundlagen

Die Mehrzahl der chemischen Elemente besteht aus zwei oder mehr Atomarten, deren Atomkerne sich zwar nicht hinsichtlich der Zahl  $P$  der (positiv geladenen) Protonen, wohl aber in bezug auf die Zahl  $N$  der (keine elektrische Ladung tragenden, also neutralen) Neutronen voneinander unterscheiden. Solche Atomarten eines und desselben chemischen Elements werden Isotope genannt. Dieser Terminus ist aus dem Griechischen abgeleitet: „isos topos“ bedeutet „gleicher Platz“. Gemeint ist der gleiche Platz im Periodensystem der Elemente, der den genannten Atomarten durch ihre übereinstimmende Protonenzahl  $P$  zugewiesen ist. So kennt man von dem chemischen Element Kohlenstoff Atomarten, die außer den für dieses Element charakteristischen sechs Protonen drei bis zehn Neutronen enthalten, deren Masse mit derjenigen der Protonen annähernd übereinstimmt.

Die chemischen und biochemischen Eigenschaften eines Elements werden durch die Struktur der Elektronenhülle seiner Atome und damit durch die Zahl  $Z$  der Elektronen in der Atomhülle geprägt. Da die Elektronenzahl  $Z$ , auch Ordnungszahl genannt, aus Gründen der Elektroneutralität gleich der Protonenzahl  $P$  im Atomkern ist, stimmen die Isotope eines und desselben chemischen Elements hinsichtlich ihrer chemischen und biochemischen Eigenschaften (zumindest annähernd) überein.

Für eine Reihe physikalischer Eigenschaften, nämlich für alle kernphysikalischen und alle von der Kernmasse merklich beeinflussten Eigenschaften trifft dies keineswegs zu. Am auffälligsten sind die Unterschiede in den kernphysikalischen Eigenschaften. So hängt es bei gegebener Protonenzahl  $P$  von der Neutronenzahl  $N$  im Atomkern ab, ob das jeweilige Isotop stabil ist oder sich unter Aussendung energiereicher Strahlung in ein anderes chemisches Element umwandelt. (Die letzteren Atomarten nennt man radioaktive Isotope.)

Mit Ausnahme des Technetiums ( $Z = P = 43$ ) und des Promethiums ( $Z = P = 61$ ) sind alle chemischen Elemente bis zum Wismut ( $Z = P = 83$ ) durch ein oder mehrere stabile Isotope in der Natur vertreten. Wenn es zwei oder mehr stabile Isotope sind, so ist ihr Mengenverhältnis in der Natur bei fast allen Elementen (annähernd) konstant. Einige dieser Elemente kommen auch in Form radioaktiver Isotope in der Natur vor, entweder weil ihr radioaktiver Zerfall so langsam vor sich geht, daß sie in den Jahrmilliarden seit ihrer Entstehung im Weltall nur teilweise zerfallen sind oder weil sie unter dem Einfluß der kosmischen Strahlung auf die Erdatmosphäre oder die Erdoberfläche ständig gebildet werden. (Auch einige Elemente mit Ordnungszahlen  $Z$  im Bereich oberhalb des Wismuts ( $Z = 83$ ) kommen in der Natur vor, wenn auch nur in Form langlebiger radioaktiver Isotope und nicht auch als stabile Isotope; das wichtigste unter diesen schweren, in der Natur vorkommenden radioaktiven Elementen ist das Uran, dessen Isotope die Grundlage der heutigen Kernenergetik bilden.)

Unter den schon genannten Isotopen des Kohlenstoffs sind diejenigen mit drei, vier, fünf, neun und zehn Neutronen im Atomkern für die medizinische Forschung und Diagnostik uninteressant. Diese radioaktiven Isotope kommen in der Natur nicht vor, können also nur künstlich hergestellt werden und zerfallen innerhalb von Bruchteilen von Sekunden bzw. von wenigen Minuten. Das Kohlenstoff-Isotop mit acht Neutronen zusätzlich zu den sechs für das Element Kohlenstoff obligatorischen Protonen hingegen ist zwar auch radioaktiv, zerfällt aber erst im Laufe vieler Jahrtausende und kommt deshalb für eine Anwendung in der medizinischen Forschung und Diagnostik durchaus in Frage. In der Natur kommt es nur in winzigen Mengen vor, die aber die Grundlage der bekannten Radiokohlenstoffmethode zur Datierung archäologischer, geologischer und ähnlicher Proben bilden. Es kann jedoch leicht künstlich hergestellt und in für die Untersuchung des menschlichen Stoffwechsels interessante Stoffe umgewandelt werden. Der Zusatz einer solchen chemischen Verbindung zu der entsprechen-

den Kohlenstoff-Verbindung natürlicher Isotopenzusammensetzung hat — wie schon gesagt — nur ganz geringfügige Veränderungen der chemischen und biochemischen Eigenschaften zur Folge. So wird es möglich, den Weg einer solchen radioaktiv markierten Verbindung anhand der leicht nachweis- und messbaren energiereichen Strahlung, die das radioaktive Isotop aussendet, zu verfolgen, etwa zu untersuchen, in welchem Tempo die Verbindung im Magen-Darm-Trakt resorbiert wird, in die Blutbahn übertritt, in der Leber metabolisiert und dann in Form ihrer Stoffwechselprodukte über die Nieren mit dem Urin oder mit dem Stuhl bzw. mit der Atemluft ausgeschieden wird. Solche Untersuchungen werden Tracerexperimente genannt; die dafür benutzten Isotope und daraus hergestellte chemische Verbindungen heißen Tracer (aus dem Englischen von *to trace* = aufspüren und *tracer* = Aufspürer, Laufzettel) oder Marker. Häufig spricht man in diesem Zusammenhang auch von Markierungsexperimenten und von isotop markierten Elementen oder Verbindungen.

Glücklicherweise ist der Zusatz radioaktiver Isotope bzw. radioaktiv markierter Verbindungen nicht der einzige Weg, Traceruntersuchungen durchzuführen. Gerade in der humanmedizinischen Forschung und Diagnostik scheut man die Strahlenbelastungen, die mit solchen Untersuchungen einhergehen. Bei Kindern und Schwangeren sind sie sogar strikt verboten.

Die Alternative besteht darin, das Mengenverhältnis der stabilen Isotope des zu markierenden Elements bzw. einer seiner chemischen Verbindungen, das in der Natur, von Ausnahmen abgesehen, nur geringen Schwankungen unterliegt, zu verändern und das Element bzw. daraus hergestellte chemische Verbindungen eben durch dieses veränderte Mengenverhältnis zu markieren, d. h. von allen anderen Stoffen, in denen das in Rede stehende Element enthalten ist, unterscheidbar zu machen, ohne ihre chemischen bzw. biochemischen Eigenschaften in nennenswertem Maße zu verändern.

Besonders bei einigen leichten chemischen Elementen, wie Wasserstoff, Kohlenstoff und Stickstoff, gelingt eine solche Markierung schon, indem man die (im allgemeinen nur geringen) Variationen des Mengenverhältnisses seiner stabilen Isotope in seinen natürlichen Vorkommen ausnutzt. Die trifft vor allem zu für Elemente wie Wasserstoff, Kohlenstoff, Stickstoff, Sauerstoff, Schwefel und (wegen des radioaktiven Zerfalls von Uran und Thorium unter Bildung von Blei-Isotopen als Endprodukte) auch für Blei.

Tab. 1 zeigt die Isotopenzusammensetzung des Kohlenstoffs für einige wichtige Vorkommen dieses Elements in der Natur. In der linken Spalte sind die jeweiligen natürlichen Kohlenstoff-Vorkommen aufgeführt. In der zweiten Spalte ist der Mengenanteil  $a$  des (in der Natur) selteneren Isotops  $^{13}\text{C}$  (in Atom%), die sogenannte  $^{13}\text{C}$ -Häufigkeit, und in der letzten Spalte der sogenannte  $\delta$ -Wert

$$\delta^{13}\text{C} = [(a - a_0) / a_0] \times 1000 \text{ ‰}$$

angegeben, worin  $a_0$  die  $^{13}\text{C}$ -Häufigkeit in einem Standard ist. Für Kohlenstoff wird der sogenannte PDB-Standard benutzt, das Kalziumkarbonat des Fossils *Belemnites* der Pee-Dee-Kreideformation in South Carolina. (Es ist üblich, die Summe der Protonenzahl  $P$  und der Neutronenzahl  $N$ , die sogenannte Massenzahl  $M = P + N$ , dem Elementsymbol als linken oberen Index hinzuzufügen.)

Vorkommen	$a$ [Atom%]	$\delta^{13}C$
Kalkstein	1,1166 – 1,1058	+4,9 – -4,9
PDB-Standard	1,11123	$\pm 0,00000$
atmosphärisches CO <sub>2</sub>	1,1045 – 1,1011	-6,1 – -9,1
Mais, Rohrzucker u. a. C <sub>4</sub> -Pflanzen	1,1009 – 1,0950	-9,2 – -14,6
Atemluft von Amerikanern	1,0930 – 1,0879	-16,4 – -21,0
Atemluft von Europäern	1,0892 – 1,0842	-19,8 – -24,3
Kartoffeln, Rübenzucker, Reis u. a. C <sub>3</sub> -Pflanzen	1,0886 – 1,0713	-20,4 – -35,9
Braun- und Steinkohle	1,0912 – 1,0646	-18 – -42
Erdöl und Erdgas	1,0878 – 1,0346	-21 – -69

**Tabelle 1**

<sup>13</sup>C-Häufigkeiten und  $\delta^{13}C$ -Werte einiger natürlicher Kohlenstoff-Vorkommen. (Als internationaler Standard ist das Kalziumkarbonat des Fossils *Belemnites* der *Pee-Dee*-Kreideformation in South Carolina, USA, der sogenannte PDB-Standard, vereinbart. C<sub>3</sub>- und C<sub>4</sub>-Pflanzen unterscheiden sich durch den Mechanismus ihrer Photosynthese).

Wie Tab. 1 zeigt, ist die mittlere <sup>13</sup>C-Häufigkeit in Kalkstein-Vorkommen um 3 % größer als diejenigen der Atemluft eines Europäers und um 5 % größer als diejenige im Erdöl bzw. Erdgas. Das sind Unterschiede, die beim heutigen Stand der Meßtechnik sicher nachgewiesen werden können. Kohlenstoff in Kalkstein und daraus hergestellte chemische Verbindungen sind also gegenüber dem Kohlenstoff in Atemgasen bzw. im Erdöl oder Erdgas markiert, stabilisotop markiert, wie man sagt. Gleiches gilt für Kohlenstoff aus C<sub>4</sub>-Pflanzen in Bezug auf Kohlenstoff aus C<sub>3</sub>-Pflanzen usw.

In den meisten Fällen zieht man allerdings auf künstlichem Wege markierte den auf natürliche Weise markierten Verbindungen vor. Stabilisotope Markierung setzt dann die künstliche Anreicherung des selteneren oder, wenn das zu markierende Element aus mehr als zwei stabilen Isotopen zusammengesetzt ist, eines der selteneren stabilen Isotope voraus.

Die meisten Verfahren zur Trennung stabiler Isotope sind multiplikative Verfahren, d. h. die im allgemeinen nur kleinen Unterschiede der Isotope und ihrer chemischen Verbindungen in Eigenschaften wie Siedetemperatur, Diffusionsgeschwindigkeit, Geschwindigkeit der Einstellung und Lage des chemischen Gleichgewichts werden durch Anwendung des sogenannten Gegenstrom-Prinzips vervielfacht, bis der gewünschte Grad der Anreicherung erreicht ist.

So steht für den ersten Schritt der Herstellung einer mit dem stabilen Isotop <sup>13</sup>C markierten Kohlenstoff-Verbindung seit vielen Jahren die Tieftemperatur-Gegenstromdestillation verflüssigten Kohlenmonoxids zur Verfügung, wobei das <sup>13</sup>CO (wegen seines im Vergleich mit <sup>12</sup>CO etwas höheren Siedetemperatur) am unteren Ende der verwendeten Gegenstromkolonne angereichert wird. Dieses wird anschließend meist zu Kohlendioxid oxidiert und dient in dieser Form als Ausgangsmaterial für die Herstellung einer Vielzahl organischer und anorgani-

scher Verbindungen unter Anwendung mehr oder weniger abgewandelter synthetischer bzw. biosynthetischer Methoden.

Ebenso wie die Trennung der Isotope eines chemischen Elements beruht auch ihre Analyse, also die Ermittlung ihrer Mengenanteile an dem jeweiligen Element, auf den (oft nur geringfügigen) Unterschieden in einigen ihrer physikalischen Eigenschaften.

Die verbreitetste, auf die Isotope aller Elemente des Periodensystems anwendbare und zugleich älteste Methode der Isotopenanalyse ist die Massenspektrometrie, welche die Abhängigkeit der Ablenkung elektrisch geladener Teilchen in elektrischen und magnetischen Feldern ausnutzt. Dabei wird die der Isotopenanalyse zu unterwerfende Substanz in einer sogenannten Ionenquelle ionisiert (Abb. 1). Bei Gasen und Dämpfen geschieht dies in der Regel durch Beschuß mit schnellen Elektronen, die ihrerseits ein oder (seltener) mehrere Elektronen aus den Molekülen oder Atomen der zu analysierenden Substanz herausschlagen und so zur Bildung positiv geladener Molekül- bzw. Atomionen Anlaß geben. Die letzteren werden mit Hilfe der Beschleunigungsspannung  $U$  aus der Ionenquelle gesaugt und beschleunigt und einem Magnetfeld bzw. einer Kombination elektrischer und magnetischer Felder zugeführt. Im Magnetfeld beschreiben die Ionen Kreisbahnen, deren Radius  $r$  von dem Verhältnis Ladungszahl  $z$  zu Masse  $m$  abhängt entsprechend der Gleichung:

$$r = 1/B \sqrt{2m/zU}$$

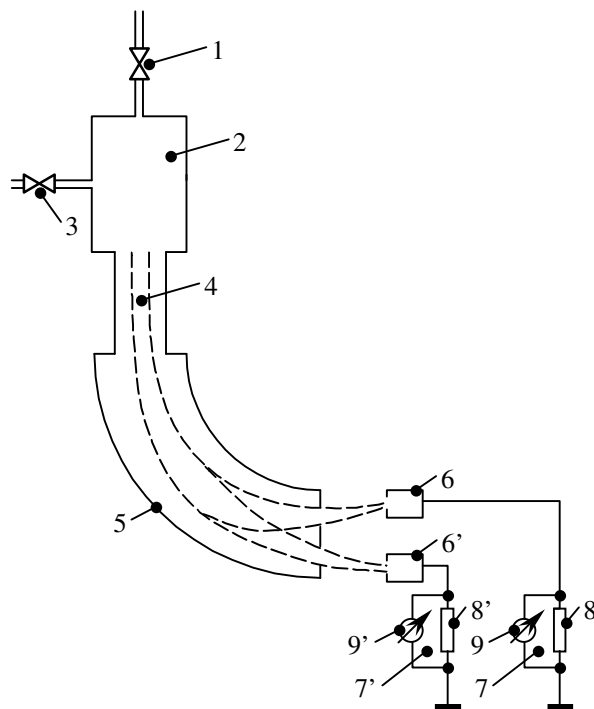
worin  $B$  die Magnetfeldstärke ist.

Die leichten Ionen werden also (bei gleicher Ladung) stärker abgelenkt als die schwereren und können voneinander getrennt aufgefangen und gemessen werden.

Wenn die der Isotopenanalyse zu unterwerfende chemische Verbindung Bestandteil eines Gemischs mit anderen Stoffen ist, werden Massenspektrometer oft mit einem Gaschromatographen gekoppelt, der die zu analysierende Verbindung bzw. die zu analysierenden Verbindungen aus dem Gemisch abtrennt, bevor sie der Ionenquelle zugeführt werden. Diese Methode wird Gaschromatographie–Massenspektrometrie (GC–MS) genannt.

Außer der Massenspektrometrie wird auch die optische Spektroskopie zur Analyse stabiler Isotope herangezogen. Die Frequenz einer Linie oder Bande im optischen Spektrum eines Atoms oder Moleküls hängt nämlich nicht nur von der Struktur seiner Elektronenhülle, sondern (in geringem Maße) auch von der Masse der Atomkerne ab. (Bei Spektrallinien, die durch Änderungen des Schwingungszustands der Atome im Molekül oder des Rotationszustands des Moleküls zustande kommen, ist dieser Einfluß evident; bei Spektrallinien, die durch Elektronenübergänge hervorgerufen werden, nimmt die Kernmasse dadurch Einfluß auf die Frequenz, daß — im Bilde der klassischen Physik gesprochen — Elektron und Atomkern um ihren gemeinsamen Schwerpunkt kreisen.)

Gewöhnlich sind optische Spektrographen mit einem Interferometer, einem Prisma oder einem Gitter ausgestattet, das die elektromagnetische Strahlung nach Maßgabe ihrer Frequenz bzw. Wellenlänge in ihre spektralen Bestandteile zerlegt.



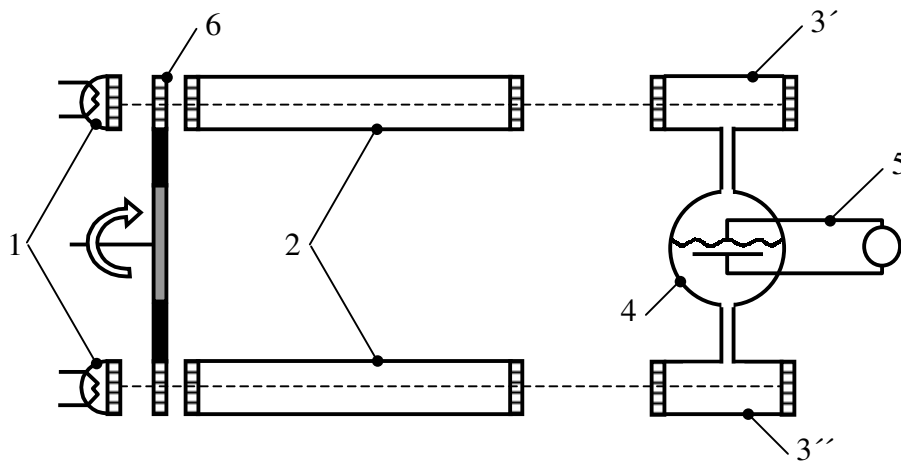
**Abbildung 1**

Schema eines Massenspektrometers nach Nier. Weitere Erläuterungen im Text.

- 1 Ventil für den Einlaß der gasförmigen Probe
- 2 Ionenquelle
- 3 Ventil für den Anschluß an eine Vakuumpumpe
- 4 Ionenstrahl
- 5 Magnetfeld
- 6 Auffänger für die leichteren Ionen
- 6' Auffänger für die schwereren Ionen
- 7 Vorrichtung zur Messung der von den leichteren Ionen an den Auffänger abgegebenen elektrischen Ladung (Ladung fließt über den elektrischen Widerstand 8 an Erde ab; die Spannungsdifferenz an den Enden dieses Widerstands wird mittels des Voltmeters 9 gemessen.)
- 7' Vorrichtung zur Messung der von den schwereren Ionen an den Auffänger abgegebenen elektrischen Ladung (Ladung fließt über den elektrischen Widerstand 8' an Erde ab; die Spannungsdifferenz an den Enden dieses Widerstands wird mittels des Voltmeters 9' gemessen.)
- 8, 8' elektrischer Widerstand
- 9, 9' Voltmeter

Für den infraroten Bereich des Spektrums der elektromagnetischen Wellen, d. h. für Wellenlängen zwischen 780 nm und 1 mm, hat sich daneben eine Variante der optischen Spektroskopie entwickelt, die ohne spektrale Zerlegung, also ohne Interferometer, Prisma oder Gitter auskommt, die sogenannte nichtdispersive Infrarotspektroskopie. Hier wird die Spezifität für die einzelnen Isotope dadurch erreicht, daß Detektoren, Strahlungsempfänger genannt, für die Messung der Strahlungsintensität verwendet werden, die mit den jeweils isotopenreinen Gasen, d. h. für die Isotopenanalyse des Kohlenstoffs im Kohlendioxid mit  $^{13}\text{CO}_2$  bzw. mit  $^{12}\text{CO}_2$  gefüllt sind, und deshalb auf Strahlung nur solcher Frequenzen ansprechen, die den Linien bzw. Banden im Spektrum dieser Gase entsprechen. Im Ergebnis der Absorption infraroter Strahlung erwärmt sich das Gas in den Strahlungsempfängern. Die infolge dieser Erwärmung eintretende Druckerhöhung wird gemessen und dient als Maß der Strahlungsintensität in eben den Bereichen des Infrarotspektrums, in denen das jeweilige isotopenreine Gas absorbiert.

Abb. 2 zeigt das Schema eines nach diesem Prinzip arbeitenden Meßgeräts.



**Abbildung 2**

Schema eines einfachen nichtdispersiven Infrarotspektrometers. Weitere Erläuterungen im Text.

- 1 Lampen, die ein Kontinuum im Infraroten emittieren
- 2 mit dem zu analysierenden Gas gefüllte Meßküvetten
- 3' mit einem der isotonenreinen Gase gefüllter Strahlungsempfänger
- 3'' mit dem anderen isotonenreinen Gas gefüllter Strahlungsempfänger
- 4 (als Kondensator ausgebildetes) Membranmanometer
- 5 Signalerfassung
- 6 rotierendes Flügelrad („Chopper“)
- Strahlengang

Die von den beiden Infrarotlampen 1 gleicher, konstanter Strahlungsleistung emittierte weiße Infrarotstrahlung durchstrahlt das in den beiden Meßküvetten befindliche Meßgas und fällt dann, in den für das Meßgas charakteristischen Spektralbereichen mehr oder weniger geschwächt, auf die mit jeweils einem der beiden isotonenreinen Gase gefüllten Strahlungsempfänger 3' und 3''. Jeder der beiden Empfänger absorbiert in den Spektralbereichen, die für das in ihm enthaltene Isotop charakteristisch sind, und erfährt dabei eine Erwärmung, die der Intensität dieser Strahlung an seinem Eintrittsfenster proportional ist. Diese Intensität wiederum hängt nicht nur von der Leistung der Infrarotlampen, sondern naturgemäß auch von der Schwächung der Strahlung in den jeweiligen Meßküvetten und damit von der Konzentration bzw. dem Partialdruck der jeweiligen Komponente in der Meßküvette ab. Nach dem Gesetz von Gay-Lussac erfahren die Gase in den Empfängern 3' und 3'' eine der Temperaturerhöhung proportionale Druckerhöhung. Das Membranmanometer 4, dessen Membran eine Platte eines Kondensators bildet, zeigt die Differenz der sich in den Strahlungsempfängern 3' und 3'' einstellenden Drücke an, die von dem Verstärker 5 verstärkt und angezeigt wird. Das rotierende Flügelrad 6 bewirkt eine periodische Unterbrechung des Strahlengangs, so daß die Membran des Manometers schwingt und am Verstärker eine Wechselspannung ankommt, die der Differenz der Konzentrationen der beiden Komponenten, in unserem Beispiel  $^{12}\text{CO}_2$  und  $^{13}\text{CO}_2$ , im Meßgas proportional ist.

Während massenspektrometrisch arbeitende  $^{13}\text{C}$ -Atemtestgeräte in der Regel nicht ohne Preßluft oder Helium (als Trägergas für die gaschromatographische Trennung des Kohlendioxids von den anderen Komponenten der Atemluft) bzw. flüssigen Stickstoff oder Trockeneis (zur Abtrennung des Kohlendioxids durch Kondensation) auskommen, bedürfen auf dem Prinzip der nichtdispersiven Infrarotspektroskopie beruhende  $^{13}\text{C}$ -Atemtestgeräte keiner Hilfsgase und keines Kühlmittels. Die Messung des  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Verhältnisses im ausgeatmeten Kohlendioxid gelingt vielmehr direkt in der Atemluft.

Es muß hervorgehoben werden, daß einatomige Gase, wie die Edelgase, und Gase, deren Moleküle aus zwei gleichen Atomen bestehen, wie Wasserstoff ( $H_2$ ), Stickstoff ( $N_2$ ) und Sauerstoff ( $O_2$ ), im Infraroten elektromagnetische Strahlung weder absorbieren noch emittieren und deshalb der Infrarotspektroskopie nicht zugänglich sind. (Alle anderen Gase sind jedoch infrarotaktiv in dem Sinne, daß sie im infraroten Bereich des Spektrums sowohl absorbieren als auch emittieren. Wenn solche Gase natürliche oder anthropogene Bestandteile der Erdatmosphäre sind, wirken sie als Treibhausgase.)

Neben den hier erläuterten Methoden der Massenspektrometrie und der Absorptionsspektrometrie werden auch die Emissionsspektrometrie sowie die Kernresonanzspektrometrie, die Neutronenaktivierung und andere kernphysikalische Methoden zur Analyse stabiler Isotope herangezogen. Speziell für die Isotopenanalyse des Wasserstoffs gibt es eine Reihe weiterer Methoden, die auf den relativ großen Unterschieden in den physikalischen Eigenschaften des Wasserstoffs und seines schweren Isotops, des Deuteriums, beruhen (Dichte, Wärmeleitfähigkeit, Brechungskoeffizient usw.).

Die Methode der stabilisotopen Markierung ist in der biochemischen Forschung sowie in der medizinischen Forschung und Diagnostik weit verbreitet. Angesichts der Schlüsselrolle des Kohlenstoffs in der belebten Natur ist es nicht verwunderlich, daß dabei die Markierung dieses Elements mit Abstand an erster Stelle steht. Besonders attraktiv ist die Methode in den Fällen, wo der zu untersuchende Stoffwechsel-Vorgang zur Bildung einer gasförmigen chemischen Verbindung führt, die der massenspektrometrischen oder optisch-spektroskopischen Isotopenanalyse direkt zugeführt werden kann, indem der Proband seine Atemluft in einen Beutel oder in ein Röhrchen bläst. In der medizinischen Forschung und Diagnostik handelt es sich in den meisten Fällen um das mit der Atemluft ausgeschiedene Kohlendioxid. Das Wesen solcher sogenannter  $^{13}C$ -Atemtests besteht darin, dem Probanden einen mit  $^{13}C$  markierten Stoff, ein sogenanntes Substrat, zuzuführen und zu verfolgen, nach welchem Zeitgesetz dieses  $^{13}C$  metabolisiert und als  $^{13}CO_2$  ausgeatmet wird.

Es ist der Gegenstand der vorliegenden Broschüre, die Methodik der  $^{13}C$ -Atemtests zu charakterisieren und ihre Anwendungsmöglichkeiten aufzuzeigen. Die letzte zusammenfassende Darstellung dieser Tests findet sich in einer Monographie aus dem Jahre 1991 (Krumbiegel P 1991). Unsere Broschüre soll deshalb als ein Bericht über die in der Zeit seit Ende der 80-er Jahre erzielten Fortschritte auf dem Gebiete der  $^{13}C$ -Atemtests gestaltet werden.

## 1.1. Das Wesen der $^{13}\text{C}$ -Atemtests

Zunächst auf klinische Untersuchungen an Kindern und Schwangeren fokussiert, bei denen die Risiken der Anwendung radioaktiver Isotope besonders groß sind, haben  $^{13}\text{C}$ -Atemtests heute die früher üblichen  $^{14}\text{C}$ -Atemtests fast völlig verdrängt.

Fast alle  $^{13}\text{C}$ -Atemtests haben gemeinsam, daß dem Probanden morgens auf nüchternen Magen eine bestimmte Menge eines  $^{13}\text{C}$ -markierten Substrats (in der Regel oral) verabreicht wird.

Wenn ein auf natürlichem Wege markiertes Substrat appliziert werden soll, sollte der Proband durch eine 3 bis 5 Tage währende Diät auf eine konstante, möglichst weit von der  $^{13}\text{C}$ -Häufigkeit des Substrats entfernte  $^{13}\text{C}$ -Häufigkeit eingestellt werden. Wenn z. B. das Substrat aus  $\text{C}_4$ -Pflanzen mit ihrem Hatch-Slack-Zyklus der Photosynthese (Mais, Rohrzucker u. a.) hergestellt ist, sollte die Diät ausschließlich aus Nahrungsmitteln bestehen, die aus  $\text{C}_3$ -Pflanzen mit ihrem Calvin-Zyklus (Rübenzucker, Kartoffel, Weizen u. a.) und ihrem im Vergleich mit  $\text{C}_4$ -Pflanzen niedrigeren  $^{13}\text{C}$ -Gehalt hergestellt sind.

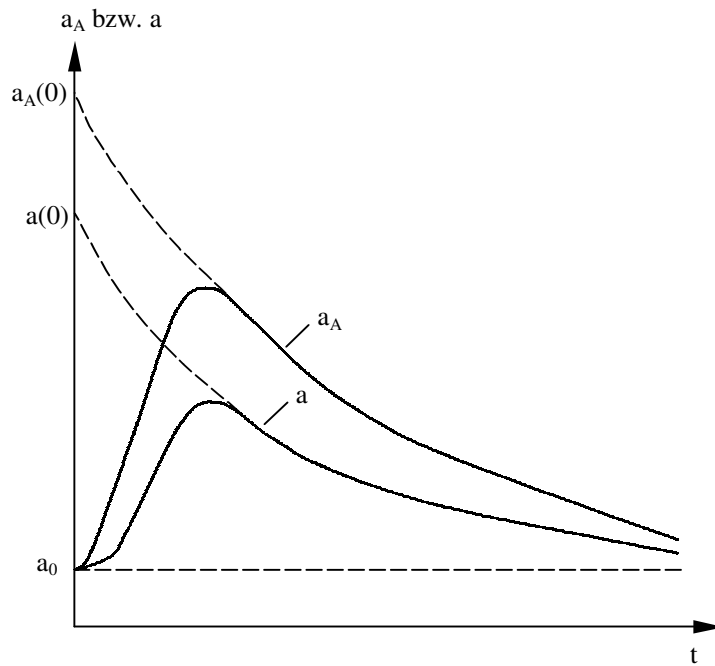
Das Substrat enthält eine oder mehrere mit  $^{13}\text{C}$  markierte funktionelle Gruppen, die im Organismus des Probanden durch enzymatische Reaktionen (Oxidation, Decarboxylierung oder Hydrolyse) abgespalten und direkt oder über Zwischenstufen in Form von  $\text{CO}_2$  mit der Atemluft ausgeschieden werden. Gemessen wird der  $^{13}\text{C}$ -Gehalt im  $\text{CO}_2$  der ausgeatmeten Luft vor der Verabreichung des Substrats (zur Zeit  $t = 0$ ) und zu bestimmten Zeiten  $t$  nach diesem Ereignis.

Wenn die zu untersuchende biochemische Reaktion der für die Ausscheidung des  $\text{CO}_2$  mit der Atemluft geschwindigkeitsbestimmende Schritt ist, dann spiegelt der zeitliche Verlauf der  $^{13}\text{C}$ -Häufigkeit im  $\text{CO}_2$  der ausgeatmeten Luft die aktuelle Stoffwechsellage des Probanden in Bezug auf diese biochemische Reaktion wider.

Im einfachsten Falle genügt es, den  $^{13}\text{C}$ -Gehalt in der Atemluft zur Zeit  $t = 0$  und zu einer einzigen Zeit  $t$  danach, etwa nach 20 oder 30 Minuten, zu messen und aus dem Anstieg des  $^{13}\text{C}$ -Gehalts während der Zeit  $t$  auf das Vorliegen oder die Abwesenheit eines pathologischen Zustands zu schließen. Als Beispiel hierfür sei der Nachweis von *Helicobacter pylori*-Infektionen mit Hilfe des  $^{13}\text{C}$ -Harnstoff-Atemtests genannt, bislang das wichtigste Anwendungsfeld von  $^{13}\text{C}$ -Atemtests.

Bei vielen anderen Tests aber werden die  $^{13}\text{C}$ -Gehalte  $a(t)$  einige bis viele Stunden lang in Zeitabständen von 10 bis 30 Minuten gemessen und in einem  $a(t)$  versus  $t$ -Diagramm gegen die Zeit  $t$  aufgetragen, wie das in Abb. 3 schematisch dargestellt ist. Dann lassen sich auch quantitative Aussagen über solche Stoffwechsel-Parameter treffen wie Geschwindigkeitskonstanten der Verdauung bzw. Absorption und der Spaltung des Substrats, Geschwindigkeitskoeffizienten bzw. Halbwertzeiten der Magenentleerung oder Dauer der lag-Phase.

In einigen hundert Publikationen und Fachvorträgen über die Anwendung von  $^{13}\text{C}$ -Atemtests in der klinischen Forschung und Diagnostik ist der Nachweis geführt worden, daß solche Tests tiefere Einsichten in Stoffwechselprozesse gewähren und diagnostische Aussagen von hoher Sensitivität und Spezifität über Erkrankungen des Magen-Darm-Trakts, der Leber, der

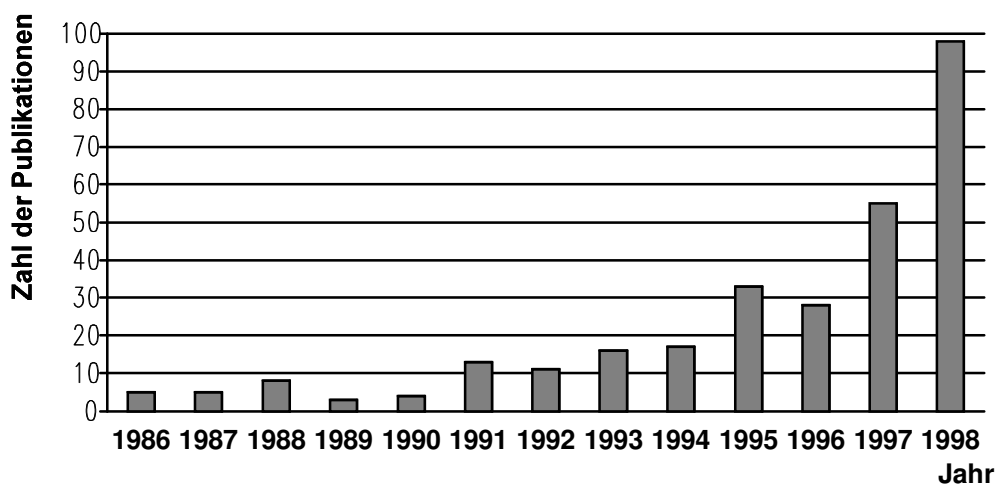


**Abbildung 3**

Schematische Darstellung der  $^{13}\text{C}$ -Gehalte in der Atemluft ( $a$ ) und in einem intensiv am Stoffwechsel beteiligten endogenen Pool, in den das Substrat eintritt ( $a_A$ ), in Abhängigkeit von der Zeit  $t$  nach Verabreichung eines  $^{13}\text{C}$ -markierten Substrats. Der anfänglich langsame Anstieg der Kurven entspricht der lag-Phase;  $a_0$  ist der  $^{13}\text{C}$ -Gehalt vor der Verabreichung des Substrats. Die Werte  $a(0)$  und  $a_A(0)$  entsprechen der Extrapolation der abfallenden Teile der Kurven für  $a$  und  $a_A$  auf  $t = 0$ .

Bauchspeicheldrüse und anderer Organe liefern können. Einschlägige frühere Übersichten finden sich bei Hofmann F und Lauterburg BH (1977), Barr RG, Perman JA, Schoeller DA et al. (1978), Gilber MA, Klein PD, Klish WJ et al. (1988), Krumbiegel P (1991) u.a.

Abb. 4 zeigt, daß sich das Gebiet der  $^{13}\text{C}$ -Atemtests mit hoher Dynamik entwickelt.



**Abbildung 4**

Dynamik der Entwicklung und Anwendung von  $^{13}\text{C}$ -Atemtests.

Tab. 2 gibt eine Übersicht der bisher untersuchten Substrate von  $^{13}\text{C}$ -Atemtests und deren Anwendungsmöglichkeiten.

$^{13}\text{C}$ -markierte Verbindung	klinisch-diagnostische Bedeutung
<b>1. Kohlenhydrate</b>	
<b>1.1. Monosaccharide</b>	
$[^{13}\text{C}]$ Glucose, $[\delta^{13}\text{C}]$ Glucose	Resorption und Verwertung von Hexosen, besonders bei Diabetes mellitus; Einfluß körperlichen Trainings auf den Kohlenhydrat-Stoffwechsel
$[^{13}\text{C}]$ Fructose	Resorption und Verwertung von Hexosen, besonders bei Diabetes mellitus
$[^{13}\text{C}]$ Galactose, $[\delta^{13}\text{C}]$ Galactose	Lebererkrankungen; hepatische mikrosomale Biotransformation; Studium von Galactose-1-phosphat-Uridyltransferase-Mangel
$[^{13}\text{C}]$ Xylose	bakterielle Überbesiedlung des Darmtrakts
<b>1.2. Oligosaccharide</b>	
$[^{13}\text{C}]$ Sucrose, $[\delta^{13}\text{C}]$ Sucrose	Sucrase-Mangelkrankung bei Kindern mit gastro-intestinalen Symptomen
$[^{13}\text{C}]$ Lactose, $[\delta^{13}\text{C}]$ Lactose	Lactase-Mangelkrankung bei Kindern mit gastro-intestinalen Symptomen
$[^{13}\text{C}]$ Maltose	Kohlenhydrat- und Fettstoffwechsel
<b>1.3. Polysaccharide</b>	
$[\delta^{13}\text{C}]$ Stärke	Verdauung und Resorption; Pankreas-Funktion; Mukoviscidose
$[\delta^{13}\text{C}]$ Glucose-Polymere	Verdauung und Metabolisierung zur Energieerzeugung; Untersuchung des Leber-Glykogen-Stoffwechsels
<b>2. Proteine und Aminosäuren</b>	
<b>2.1. Proteine</b>	
$[\delta^{13}\text{C}]$ Proteine	Eiweiß-Stoffwechsel
$[\delta^{13}\text{C}]$ Kasein	Steatorrhoe; Verdauung und Resorption
$[^{13}\text{C}]$ Eiklar	Eiweiß-Stoffwechsel
$^{13}\text{C}$ -markiertes Ei-Protein	Bestimmung der wahren Verdaulichkeit von Ei-Protein im Ileum
$^{13}\text{C}$ -markierte Algen-Biomasse	Stoffwechsel
<b>2.2. Aminosäuren</b>	
L-[1- $^{13}\text{C}$ ]Leucin	Aminosäure-Abbau; Therapiekontrolle bei Diätbehandlung der Phenylketonurie
$[^{13}\text{C}]$ Glycin	Aminosäure-Abbau; Geschwindigkeit der Magenentleerung
DL-[1- $^{13}\text{C}$ ]Phenylalanin	Aminosäure-Abbau
L-[1- $^{13}\text{C}$ ]Phenylalanin	Aminosäure-Abbau; Untersuchung der Leberfunktion
$[^{13}\text{C}]$ Tyrosin	Geschwindigkeit des Tyrosin-Abbaus
<b>2.3. Milchprodukte</b>	
$[\delta^{13}\text{C}]$ Milchprodukte	Stoffwechsel

**Tabelle 2**

Überblick über die bisher untersuchten Substrate von  $^{13}\text{C}$ -Atemtests und deren klinisch-diagnostische Bedeutung. (Ein  $\delta$  vor dem  $^{13}\text{C}$  in eckigen Klammern bedeutet, daß das Substrat auf natürlichem Wege mit  $^{13}\text{C}$  markiert ist. Fortsetzung siehe folgende Seite.)

<sup>13</sup> C-markierte Verbindung	klinisch–diagnostische Bedeutung
<b>3. Lipide</b>	
[δ <sup>13</sup> C]Lipide	Fett–Stoffwechsel; Fett–Malabsorption
[δ <sup>13</sup> C]Maisöl	Fett–Malabsorption
[δ <sup>13</sup> C]Sojaöl	Fett–Malabsorption
[δ <sup>13</sup> C]gemischte Triglyceride, [ <sup>13</sup> C]gemischte Triglyceride	auf exokriner Pankreas–Insuffizienz beruhende Störung der Fettsplattung
Tri–[1– <sup>13</sup> C]Octanoylglycerol	Fett–Malabsorption
1,3 Distearyl–2–[1– <sup>13</sup> C] Octanoyl- glycerol	Fett–Malabsorption
[ <sup>13</sup> C]Triolein	Fett–Malabsorption
[ <sup>13</sup> C]Tripalmitin	Fett–Malabsorption
[ <sup>13</sup> C]Trioctanoin	Fett–Malabsorption
<b>4. Karbonsäuren</b>	
[ <sup>13</sup> C]Fettsäuren	Untersuchungen über den Myokard–Stoffwechsel
[ <sup>13</sup> C]Acetate	Geschwindigkeit der Magenentleerung; Aldehyddehydrogenase–Mangel
[ <sup>13</sup> C]Octansäure	Geschwindigkeit der Magenentleerung
[ <sup>13</sup> C]Ketoisocaproensäure	durch Alkohol–Mißbrauch verursachte Fettleber
[ <sup>13</sup> C]Glycocholsäure	enterohepatischer Kreislauf; Gallensäure–Malabsorp- tion; bakterielle Überbesiedlung des Darmtrakts
[ <sup>13</sup> C]Valproensäure	Untersuchung epileptischer Erkrankungen
<b>5. Kohlensäure und ihre Derivate</b>	
Natrium[ <sup>13</sup> C]hydrogencarbonat	gastrointestinale Übergangszeit
[ <sup>13</sup> C]Harnstoff	Infektion durch Helicobacter (früher: Campylobacter) pylori und Erkrankungen im Bereich des Magens und des Dünndarms, die durch diese Infektion verursacht werden
[ <sup>13</sup> C]Glycosylureide	intestinale Übergangszeit
Laktose[ <sup>13</sup> C]ureid	Gärungsvorgänge im Dickdarm; oroökale Transitzeit; zökale Retentionszeit
Laktose[ <sup>13</sup> C, <sup>15</sup> N]ureid	intestinale Übergangszeit; Untersuchung der Gärungsvorgänge im Dickdarm
<b>6. Alkohole</b>	
[ <sup>13</sup> C]Ethanol	Aldehyddehydrogenase–Mangel
<b>7. Sonstige</b>	
Methyl[ <sup>13</sup> C]methacetin	Lebererkrankungen; Biotransformation der Leber– Mikrosomen
[1,3,7–Methyl– <sup>13</sup> C]koffein	Lebererkrankungen; Biotransformation der Leber– Mikrosomen
[ <sup>13</sup> C <sub>2</sub> ]Aminopyrin	Biotransformation der Leber–Mikrosomen
[ <sup>13</sup> C]Erythromycin	Leber–Erkrankungen

**Tabelle 2 (Fortsetzung)**

Überblick über die bisher untersuchten Substrate von <sup>13</sup>C–Atemtests und deren klinisch–diagnostische Bedeutung. (Ein δ vor dem <sup>13</sup>C in eckigen Klammern bedeutet, daß das Substrat auf natürlichem Wege mit <sup>13</sup>C markiert ist.)

## 1.2. Terminologie der Traceruntersuchungen mit stabilisotop markierten Verbindungen

Das Verständnis und die Vergleichbarkeit der Ergebnisse klinischer und anderer Untersuchungen mit stabilisotop markierten Verbindungen wird dadurch erschwert, daß es kein einheitliches, allgemein akzeptiertes Maß des Gehalts einer Substanz an einem stabilen Isotop wie  $^{13}\text{C}$  gibt. Vielmehr sind mindestens fünf solche Maße nebeneinander in Gebrauch (Krumbiegel 1980). Im folgenden soll der Begriff  $^{13}\text{C}$ -Gehalt als Oberbegriff für die einzelnen Bezeichnungen für den Anteil des  $^{13}\text{C}$  an dem Element Kohlenstoff verwendet werden.

Die (relative) Isotopenhäufigkeit ist definiert als der Quotient aus der Menge des betrachteten Isotops (in mol), in unserem Falle des  $^{13}\text{C}$ , und der Gesamtmenge des Elements (in mol), also der Summe aller in der Natur vorkommenden Isotope dieses Elements, in unserem Falle  $^{12}\text{C}$  und  $^{13}\text{C}$ . (Das in der Natur ebenfalls vorkommende, radioaktive Isotop  $^{14}\text{C}$  fällt mengenmäßig nicht ins Gewicht.) Das Hundertfache dieses Wertes ist die Isotopenhäufigkeit in Atom%. Die Anreicherung eines — meist eines bzw. des in der Natur seltenen — Isotops wie des  $^{13}\text{C}$  gegenüber seiner natürlichen relativen Häufigkeit wird meist als Excess- oder Überschuß-Häufigkeit in Atom% Überschuß angegeben, also als Differenz relative Häufigkeit minus natürliche Häufigkeit dieses Isotops.

Bei nur geringen Abweichungen der relativen Häufigkeit eines Isotops von seiner natürlichen Häufigkeit, wie sie im Tracerexperiment bei starker Isotopenverdünnung und bei Untersuchungen über die Variationen der Isotopenzusammensetzung der Elemente in ihren natürlichen Vorkommen die Regel sind, wird anstelle der Anreicherung in Atom% bzw. Atom% Überschuß meist der  $\delta$ -Wert des Isotops angegeben, der als relative Abweichung der Häufigkeit eines, meist eines in der Natur seltenen, Isotops von der Häufigkeit dieses Isotops in einem (meist international vereinbarten) Standard in Promille definiert ist:

$$\delta = [(a_{\text{Probe}} - a_{\text{Standard}}) / a_{\text{Standard}}] \times 1000 \text{ ‰}$$

Im Falle des Kohlenstoffs gilt der PDB-Standard, das Kalziumkarbonat des Fossils Belemnite der Pee-Dee-Formation in South Carolina, mit  $a_0(^{13}\text{C}) = 1,11123$  Atom% entsprechend  $\delta^{13}\text{C} = \pm 0,00000$ . Daraus ergibt sich für die Umrechnung von  $\delta$ -Werten  $\delta^{13}\text{C}$  in relative Häufigkeiten  $a(^{13}\text{C})$  in Atom% die Beziehung:

$$a(^{13}\text{C}) = a_0(^{13}\text{C}) (1 + \delta^{13}\text{C}/1000) = 1.11123 (1 + \delta^{13}\text{C}/1000)$$

Ähnlich wie man Isotopenhäufigkeiten oft als Excess-Häufigkeiten angibt, werden  $\delta$ -Werte häufig in Form ihrer Abweichung (DOB  $\equiv$  Delta Over Baseline) von dem vor der Applikation des markierten Substrats gemessenen  $\delta$ -Wert wiedergegeben:

$$\text{DOB} = \delta - \delta_{\text{Baseline}}$$

Besonders wenn das chemische Element, wie im Falle des Kohlenstoffs, aus zwei stabilen Isotopen zusammengesetzt ist, wird die Anreicherung zuweilen auch als Isotopenverhältnis angegeben. Darunter versteht man den Quotienten aus den (in mol gemessenen) Mengen dieser beiden Isotope, wobei das seltenere Isotop sowohl im Zähler als auch im Nenner dieses Quotienten stehen kann.

Glücklicherweise ist diese Vielfalt in den gebräuchlichen Angaben über  $^{13}\text{C}$ -Gehalte nicht in jedem Falle ein entscheidendes Hindernis bei der Interpretation der Ergebnisse von  $^{13}\text{C}$ -Atemtests, weil das markierende Isotop  $^{13}\text{C}$  im natürlichen Bereich sehr viel (etwa um zwei Größenordnungen) seltener ist als das andere stabile Isotop des Kohlenstoffs, das  $^{12}\text{C}$ . Solange

die gemessenen  $^{13}\text{C}$ -Gehalte nicht stark vom PDB-Standard abweichen, stimmen die Zahlenwerte für die relative Häufigkeit des  $^{13}\text{C}$  und für das  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Verhältnis deshalb annähernd überein.

Nuklide sind Atomarten, deren Atomkerne durch eine bestimmte Protonenzahl und eine bestimmte Neutronenzahl charakterisiert sind. Wenn zwei oder mehr Nuklide übereinstimmende Protonenzahlen haben, d.h. zu einem und demselben chemischen Element gehören, werden sie meist Isotope genannt, besonders wenn die Zugehörigkeit zu einem und demselben Element besonders betont werden soll. (Unglücklicherweise wird der Ausdruck ‚Isotop‘ oft auch als Synonym für ‚Nuklid‘ benutzt.) In den Jahren 1978 und 1979 hat die International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC) Regeln für die Nomenklatur vorgeschlagen, um eine einheitliche und eindeutige Kennzeichnung chemischer Verbindungen mit modifizierter Isotopenzusammensetzung durchzusetzen (IUPAC 1978 und 1979). Nach diesen Regeln sind isotopisch markierte Verbindungen Mischungen aus einer isotopisch unmodifizierten Verbindung und einer oder mehreren analogen, isotopisch substituierten Verbindungen.

Wenn die Stellung des markierenden Nuklids bzw. die Positionen und die Zahlen der markierenden Nuklide im Molekül wohl definiert sind, wird die entsprechende chemische Verbindung spezifisch markiert genannt.

Die Strukturformeln spezifisch markierter Verbindungen werden in der üblichen Weise niedergeschrieben, nur werden die jeweiligen Isotopensymbole in eckige Klammern gesetzt. Beispielsweise bezeichnet  $[^{13}\text{C}]\text{O}(\text{NH}_2)_2$  einen Harnstoff mit an  $^{13}\text{C}$  angereichertem Kohlenstoff.

Im Falle isotonenreiner chemischer Verbindungen, also isotopisch substituierten Verbindungen, werden die eckigen Klammern weggelassen. So bezeichnet die Strukturformel  $^{13}\text{CO}(\text{NH}_2)_2$  einen Harnstoff mit reinem  $^{13}\text{C}$ . Da solche Verbindungen lediglich hypothetisch sind, wird die Schreibweise ohne Klammern oft auch für spezifisch markierte Verbindungen benutzt.

Der Name einer spezifisch markierten Verbindung ist zu bilden durch Einfügen des Nuklid-symbols bzw. der Nuklidsymbole, dem / denen Buchstaben bzw. Zahlen zur Kennzeichnung der Stellung des Nuklids / der Nuklide im Molekül voranzustellen sind, und zwar entweder vor dem Namen oder vor der Bezeichnung des Teils der Verbindung, die modifiziert ist. So steht  $[^{13}\text{C}]\text{Harnstoff}$  für  $[^{13}\text{C}]\text{O}(\text{NH}_2)_2$  oder  $\beta\text{-D-Galactosyl-(1,4)-}\alpha\text{-D-}[^{13}\text{C}]\text{glucose}$  für  $\text{C}_6\text{H}_{11}\text{O}_5\text{-O-}^{13}\text{C}_6\text{H}_{11}\text{O}_5$ .

Multipel mit einem einzigen Isotop markierte Verbindungen werden in einer im folgenden Beispiel demonstrierten Weise bezeichnet:  $\text{H}_2[^{15}\text{N}]\text{-CO-}[^{15}\text{N}]\text{H}_2$  oder  $([^{15}\text{N}]\text{H}_2)_2\text{CO}$  oder  $\text{CH}_4\text{O}[^{15}\text{N}_2]$  steht für einen in beiden  $\text{NH}_2$ -Gruppen mit  $^{15}\text{N}$  markierten Harnstoff ( $[^{15}\text{N}_2]\text{Harnstoff}$ ), während gemischt markierte Verbindungen so geschrieben werden, wie es das folgende Beispiel zeigt:  $([^{15}\text{N}]\text{H}_2)_2^{13}\text{CO}$  oder  $^{13}\text{CH}_4\text{O}[^{15}\text{N}_2]$  für einen mit  $^{13}\text{C}$  und mit  $^{15}\text{N}$  in beiden  $\text{NH}_2$ -Gruppen markierten Harnstoff ( $[^{13}\text{C}, ^{15}\text{N}_2]\text{Harnstoff}$ ).

Unter den von der IUPAC empfohlenen Symbolen sind folgende für die Tracertechnik mit stabilen Isotopen besonders wichtig:

Wie in der klassischen Chemie steht das Symbol

- m für die Masse eines Stoffs in Gramm [g]
- M für die Molmasse in Gramm pro Mol [g/mol]
- n für die Menge eines Stoffs in Mol [mol]

Isotopische Besonderheiten werden ausgedrückt, indem diesen Symbolen geeignete Indices angefügt werden, z. B.

- $m_{13C}$  oder  $m(13C)$  für die Masse von  $^{13}C$  in Gramm [g]
- $M_{13C}$  oder  $M(13C)$  für die Molmasse von  $^{13}C$  in Gramm pro Mol [g/mol]
- $n_{13C}$  oder  $n(13C)$  für die  $^{13}C$ -Menge in Mol [mol]

Im Rahmen der genannten IUPAC-Empfehlungen gibt es nur eine für die Chemie der stabilen Isotope typische physikalische Größe ohne Parallele in der klassischen Chemie, nämlich die schon erwähnte relative Häufigkeit  $a$ , d.h. den Quotienten aus der Menge  $n_i$  und der Summe  $\Sigma n$  der Mengen aller Isotope des jeweiligen chemischen Elements:  $a_i = n_i / \Sigma n$ . Nach den IUPAC-Empfehlungen ist das Hundertfache von  $a_i$  in Atom% bzw. at.% anzugeben.

Das Symbol  $a_0$  wird für die Häufigkeit eines Isotops in den natürlichen Vorkommen des jeweiligen Elements verwendet. Wie schon erwähnt, variiert  $a_0$  in gewissen Grenzen (vgl. Tab. 1).

Besonders Isotopenhäufigkeiten und -mengen werden oft in Excess-Häufigkeiten  $a'$  bzw. Excess-Mengen  $n'$  angegeben:  $a' = a - a_0$  oder  $n' = n - n_0$ .

### 1.3. Methodik der Auswertung von Tracereperimenten in der Medizin

Während die klassische gravimetrische Analyse die vollständige Abtrennung der zu bestimmenden Stoffe in reinem Zustande voraussetzt, genügt bei der Isotopenverdünnungsanalyse die Abtrennung eines beliebigen Teils der analytisch zu bestimmenden Komponenten. Besonders in der Biochemie und in der Medizin, die in der Regel mit kompliziert zusammengesetzten Gemischen zu tun haben, in denen die quantitativ zu bestimmenden Stoffe überdies meist in nur geringen Konzentrationen vorliegen, ist dies von großem Vorteil.

Bei der Isotopenverdünnungsanalyse wird dem zu analysierenden System eine bekannte Menge  $n_t$  des Tracers, also der quantitativ zu bestimmenden Verbindung, in mit einem Isotop markierter Form zugesetzt. Es gilt dann die Isotopenbilanzgleichung:

$$n a_0 + n_t a_t = (n + n_t) a ,$$

worin  $n$  die Menge des zu bestimmenden Stoffs,  $a_t$  die relative Häufigkeit des markierenden Isotops in dem Tracer und  $a_0$  die natürliche Häufigkeit dieses Isotops ist. Nach gründlicher Durchmischung wird dann eine beliebige Menge des zu bestimmenden Stoffs aus dem zu untersuchenden Gemisch abgetrennt und der Isotopenanalyse unterworfen, in deren Ergebnis die relative Häufigkeit  $a$  in der Isotopenbilanzgleichung erhalten wird.

Die gesuchte Menge  $n$  erhält man durch Umformen dieser Gleichung:

$$n = n_t (a_t - a) / (a - a_0)$$

bzw. (in der Sprache der Excess-Häufigkeiten  $a' = a - a_0$  und  $a_t' = a_t - a_0$ ):

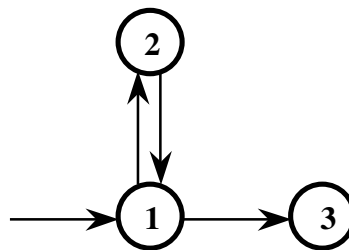
$$n = n_t (a_t' / a' - 1) .$$

Wie leicht gezeigt werden kann, liegt der Vorteil der Isotopenverdünnungsanalyse nicht allein darin, daß auf eine vollständige Abtrennung des zu bestimmenden Stoffes verzichtet werden kann, sondern auch darin, daß auch kleine Konzentrationen mit hoher Genauigkeit gemessen werden können. Die Bestimmung des Blutvolumens und der Gesamtmenge der Körperflüs-

sigkeit sind Beispiele für die Anwendung des Prinzips der Isotopenverdünnungsanalyse in Biologie und Medizin.

Anders als bei dieser statischen Isotopenverdünnungsanalyse spielt bei vielen anderen Traceranwendungen der Parameter ‚Zeit‘ eine Rolle. Diese Art der Traceranwendung ist Gegenstand der Tracerkinetik. In der Biochemie und der Medizin ist das mit den Mitteln der Tracerkinetik oder – wie man auch sagt – der dynamischen Isotopenanalyse zu untersuchende System ein lebender Organismus oder ein Teil eines lebenden Organismus, in der Humanmedizin eben der menschliche Körper bzw. ein menschlicher Körperteil, in der Veterinärmedizin ein Tier bzw. ein tierischer Körperteil. So hat die Tracerkinetik in der Medizin mit Modellen des menschlichen (bzw. tierischen) Stoffwechsels, Kompartimenten bzw. Pools, Stoffströmen, Geschwindigkeiten von biochemischen und Transportvorgängen usw. zu tun.

Schon 1949 erdachten Sprinson und Rittenberg ein Modell des menschlichen Eiweißstoffwechsels (Abb. 5) für die Auswertung von  $^{15}\text{N}$ -Traceruntersuchungen, das aus einem Eiweiß-Pool, einem Nichteiweiß-Stickstoff-Pool und einem Ausscheidungs-Pool besteht (Sprinson DB und Rittenberg D 1949).



**Abbildung 5**

Drei-Pool-Modell des menschlichen Eiweiß-Stoffwechsels.

- Pool 1 Nichteiweiß-Stickstoff (Aminosäuren, Amide, Ammoniumsalze usw.)
- Pool 2 Eiweiß-Stickstoff
- Pool 3 Gesamt-Stickstoff im Urin

Die Pfeile symbolisieren die Flüsse der Stickstoff-Aufnahme und -Ausscheidung, der Synthese (anabole Vorgänge) und des Abbaus von Eiweiß (katabole Vorgänge).

1962 haben Berman M, Shan E und Weiss MF (1962) eine Methode der mathematischen Modellierung von Vorgängen in biologischen Systemen vorgelegt, das sich auch für Traceruntersuchungen als brauchbar erwiesen hat. Das Konzept dieser sogenannten Compartment-Theorie definiert bestimmte stoffliche Reservoirs innerhalb des experimentell zu untersuchenden Systems, die durch bestimmte Stoffströme miteinander und mit der Umgebung verbunden sind. In das System eintretende Stoffströme können sein die Nahrung bzw. bestimmte Bestandteile der Nahrung, Pharmaka oder eben isotop markierte Verbindungen. Andererseits sind Stoffe wie Urin, Faeces, Atemluft oder — bei laktierenden Tieren — auch Milch bzw. bestimmte, darin enthaltene Stoffe als Stoffströme zu behandeln, welche das zu untersuchende System verlassen.

Der enterohepatische Kreislauf, die mikrosomale Biotransformation, anabole und katabole Prozesse, reduktive Aminierung von Ketosäuren und oxidative Desaminierung von Aminosäuren, Synthese und Abbau von Polysacchariden, Carboxylierung und Decarboxylierung, intermediäre Stadien der Metabolisierung von endogenen Stoffen ebenso wie von Xenobiotika können oft als Stoffströme modelliert werden, welche bestimmte Kompartimente miteinander verbinden.

Der mathematische Formalismus der Compartment–Theorie ist auf die Annahme gegründet, daß die Kompartimente durch stoffliche — und im Falle von Traceruntersuchungen auch isotopische — Homogenität ausgezeichnet sind, wobei diese Homogenität zustande kommt durch rasche Vermischung, beispielsweise durch Zirkulation bzw. Peristaltik oder einfach durch den Aufenthalt in ein und demselben, relativ abgeschlossenen Organ, wie etwa der Leber oder der Blase.

Für jedes dieser Kompartimente gilt eine Stoffbilanzgleichung:

$$\boxed{\begin{array}{c} \text{in das Kompartiment} \\ \text{eintretenden} \\ \text{Stoffströme} \end{array}} - \boxed{\begin{array}{c} \text{Summe der das} \\ \text{Kompartiment} \\ \text{verlassenden Stoffströme} \end{array}} = \boxed{\begin{array}{c} \text{zeitliche Änderung der} \\ \text{Stoffmenge in diesem} \\ \text{Kompartiment} \end{array}}$$

Wenn die Größe des Kompartiments, d. h. die Stoffmenge in dem Kompartiment, konstant ist, vereinfacht sich die Stoffbilanz zu:

$$\boxed{\begin{array}{c} \text{Summe der in das Kompartiment} \\ \text{eintretenden Stoffströme} \end{array}} = \boxed{\begin{array}{c} \text{Summe der das Kompartiment verlassenden} \\ \text{Stoffströme} \end{array}}$$

In beiden Fällen erhält man eine durch die Zahl der Kompartimente gegebene Zahl von Bestimmungsgleichungen für der direkten experimentellen Bestimmung (meist) nicht zugängliche Stoffströme bzw. Poolgrößen.

Es ist der entscheidende Fortschritt, den die Einführung der Tracertechnik ermöglicht hat, daß zu jeder dieser Stoffbilanzen eine entsprechende Isotopenbilanz hinzutritt und so die Zahl der Bestimmungsgleichungen verdoppelt wird. Deshalb gelangt man mit Traceruntersuchungen zu Einsichten, die in entscheidendem Maße über die Möglichkeiten klassischer Untersuchungen hinausgehen.

Diese wichtige Aussage soll durch ein Beispiel näher erläutert werden: Das Ergebnis einer Untersuchung über Probleme der parenteralen Ernährung durch bloße Bilanzierung der aufgenommenen und ausgeschiedenen Stoffmengen und der Körpermasse der Probanden wird niemals hinausgehen über die Kenntnis der Differenz zwischen Anabolismus und Katabolismus, während im Ergebnis einer Traceruntersuchung die Geschwindigkeiten sowohl der anabolen als auch der katabolen Prozesse erhalten werden.

Während lebenden Organismen verabreichte endogene Stoffe in der Regel in ein Kompartiment (oder in mehrere Kompartimente) innerhalb dieser Organismen eintreten, werden Xenobiotika wie z. B. Pharmaka normalerweise nicht in ein solches Kompartiment gelangen, weil der Organismus solche Reservoirs gar nicht enthält. Die Auswertung der experimentellen Ergebnisse solcher Untersuchungen ist dann wesentlich einfacher. Im Rahmen der Compartment–Theorie ist in diesen Fällen die Größe der entsprechenden Kompartimente gleich Null zu setzen.

Man beachte, daß Autoren, die auf den strengen mathematischen Formalismus der Compartment–Theorie keinen Wert legen, anstelle des Ausdrucks „Kompartiment“ (oder „Compartment“) meist den Terminus „Pool“ benutzen.

Die Ergebnisse solcher Art von Tracer–Untersuchungen über den Stoffwechsel endogener Substanzen können als Pool–Größen (in mol) oder, wenn Stoffströme zu charakterisieren sind, als Turnover–Raten (in mol/s) bzw. Turnover–Zeiten (in s) angegeben werden. Hauptsächlich für markierte Xenobiotika sind weitere Fachtermini in Gebrauch, wie

- der ausgeschiedene Anteil an der verabreichten Tracermenge,
- die Halbwertszeit der Ausscheidung der markierten Verbindung und
- die maximale Ausscheidungsgeschwindigkeit und die zugehörige Zeit.

Das Wechselspiel zwischen Aufnahme und Ausscheidung der markierten Substanz kann durch die klassische, zur Beschreibung des radioaktiven Zerfalls eines Nuklids, das seinerseits durch den radioaktiven Zerfall eines Mutternuklids gebildet wird, ausgearbeitete Bateman-Funktion dargestellt werden. In dieser Funktion kommt die Differenz zweier Exponentialfunktionen vor, die eine die Kinetik der Aufnahme, die andere die Kinetik der Ausscheidung beschreibend. Oft kann die Geschwindigkeit der Aufnahme als groß im Vergleich mit der Ausscheidung des Tracers angesehen werden. Dann verschwindet diejenige Exponentialfunktion, welche die Aufnahme des Tracers beschreibt, und es resultiert das einfache Zeitgesetz:

$$c_t = c_0 e^{-k t} ,$$

worin  $c_0$  die Konzentration des Tracers zum Zeitpunkt der Aufnahme,  $c_t$  die Konzentration des Tracers zum Zeitpunkt  $t$  nach der Aufnahme und  $k$  die Geschwindigkeitskonstante der Ausscheidung ist. Die Halbwertszeit  $t_{1/2}$  der Ausscheidung ergibt sich daraus zu

$$t_{1/2} = \ln 2 / k .$$

Bezüglich weiterführender Literatur über die Auswertung von Tracer-Untersuchungen an dynamischen Systemen vgl. z. B. Krumbiegel P (1991 a), Wetzel K, Hübner G und Gebhardt O (1961), Winkler E, Faust H, Wetzel K et al. (1978), Wetzel K, Junghans P, Faust H et al. (1979), Gebhardt O, Wetzel K, und Hübner G (1964), Wetzel K, Gebhardt O und Hübner G (1966), Wetzel K, Gebhardt O und Hübner G (1966 a), Wetzel K, Hübner G und Gebhardt O (1963), Wetzel K, Winkler E, Faust H et al. (1968), Pfeifer S, Pflügel P und Borchert HH (1984), Krumbiegel P, Teichmann B, Faust H et al. (1988) und Faust H, Junghans P, Matkowitz et al. (1981).

## 2. Fortschritte bei der Bereitstellung von Substraten für $^{13}\text{C}$ -Atemtests

Kürzlich haben Klein u. a. (Klein PD 1998) eine Methode zur Bereitung von Substraten für  $^{13}\text{C}$ -Atemtests zur Ermittlung der Geschwindigkeit der Magenentleerung vorgeschlagen und getestet, die von der Biomasse solcher Algen ausgeht, welche in einer Atmosphäre gezüchtet werden, die  $[^{13}\text{C}]$ Kohlendioxid anstelle von Kohlendioxid natürlicher Isotopenzusammensetzung enthält. Die auf diese Weise hergestellte  $[^{13}\text{C}]$ Biomasse wird direkt zur Herstellung solcher Nahrungsmittel benutzt, die als Substrate für  $^{13}\text{C}$ -Atemtests zur Bestimmung der Geschwindigkeit der Magenentleerung geeignet sind. Ihr Vorzug dürfte in erster Linie darin bestehen, daß das Verhalten solcher Substrate im Magen-Darm-Trakt dem üblicher, insbesondere vegetarischer Nahrungsmittel näherkommt, als das bei anderen Substraten für  $^{13}\text{C}$ -Atemtests, wie  $[^{13}\text{C}]$ Acetate oder  $[^{13}\text{C}]$ Octansäure der Fall ist, die zur Bestimmung der Geschwindigkeit der Magenentleerung benutzt werden.

In diesem Zusammenhang sei auch auf Stoffwechsel-Untersuchungen von Berthold HK, Crain PF, Gouni I et al. (1995) und Berthold HK, Jahoor F, Klein PD et al. (1995) hingewiesen, bei denen Versuchstieren bzw. Patienten mit  $^{13}\text{C}$  markierte Algen verabreicht wurden, die in mit  $^{13}\text{CO}_2$  versorgten Hydrokulturen gezüchtet wurden.

Ein prinzipiell neuer Weg wird von Wetzel und Fischer (Wetzel K und Fischer H 1998) beschrieben: Ebenso wie bei dem eben beschriebenen Verfahren werden Algen gezüchtet, aber nicht unter Einsatz von künstlich angereichertem  $[^{13}\text{C}]$ Kohlendioxid, sondern unter Verwendung eines gewissen, nicht zu kleinen Vorrats von Kohlendioxid natürlicher Isotopenzusammensetzung in einem halbgeschlossenen System, dem (praktisch) kein weiteres Kohlendioxid zugeführt wird und dem Algen-Biomasse in möglichst kleinen Portionen bzw. kontinuierlich entzogen wird, bis der Kohlendioxid-Vorrat bis auf einen Rest in der Größenordnung von einigen Prozent bzw. Promille aufgebraucht ist. (Das Austragen der Biomasse gewährleistet, daß ein Minimum an organisch gebundenem Kohlenstoff innerhalb des Systems auf dem Wege der Atmung in Kohlendioxid zurückverwandelt wird.)

Algen gehören zu den  $\text{C}_3$ -Pflanzen, deren Photosynthese dem sogenannten Calvin-Zyklus folgt. Bei diesem Mechanismus wird  $^{12}\text{CO}_2$  um etwa 2 % rascher assimiliert als  $^{13}\text{CO}_2$  und dem beschriebenen System deshalb bevorzugt entzogen. Das gewünschte  $^{13}\text{CO}_2$  reichert sich demzufolge gegen Ende der Prozedur in dem verbliebenen Kohlendioxid an und kann als Produkt entnommen werden. Auch die in dieser Phase produzierte Biomasse ist in einem für  $^{13}\text{C}$ -Atemtests nutzbaren Maße an  $^{13}\text{C}$  angereichert. Aus dieser Biomasse kann nach bekannten Methoden ein großer Teil der Palette der für  $^{13}\text{C}$ -Atemtests und andere Traceruntersuchungen geeigneten  $^{13}\text{C}$ -markierten organischen Verbindungen in einem Zuge hergestellt werden: Speisen aus pflanzlichen (und mittelbar auch aus tierischen) Rohstoffen, Eiweiße, Fette, Lipide, Kohlenhydrate, deren Hydrolysate, pflanzliche Wirkstoffe usw.

Wenn als Ausgangsprodukt nicht atmosphärisches oder durch Verbrennung fossiler Brennstoffe, sondern aus natürlichen Kalken hergestelltes Kohlendioxid eingesetzt wird, lassen sich so Substrate mit einer  $^{13}\text{C}$ -Häufigkeit von 1,2 bis 1,3 Atom% (statt 1,08 Atom% in  $\text{C}_3$ -Pflanzen) gewinnen, ohne den bei vielen organischen Verbindungen beschwerlichen und kostspieligen Weg der Totalsynthese aus künstlich angereichertem  $^{13}\text{C}$  gehen zu müssen.

Ein elegantes Verfahren zur Synthese von  $^{13}\text{C}$ -Harnstoff wurde von Iida K, Chiyoda T und Kajiwara M (1996) ausgearbeitet.

### 3. Fortschritte bei den analytischen Techniken für $^{13}\text{C}$ -Atemtests

#### 3.1. Verabreichung des Substrats, Probennahme und Probenaufbereitung

Kajiwara M, Katsumi J, Takatori K et al. (1997) zeigten, daß der  $^{13}\text{C}$ -Harnstoff-Atemtest eine empfindliche und spezifische Methode zur Diagnose von *Helicobacter pylori*-Infektionen ist, und schlagen folgende Standard-Prozedur vor: Unmittelbar vor der Verabreichung von 100 mg in Wasser gelöstem  $^{13}\text{C}$ -Harnstoff wird das  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Verhältnis in der Atemluft mittels nichtdispersiver Infrarotspektrometrie oder Massenspektrometrie gemessen. Der in der Mundhöhle verbleibende  $^{13}\text{C}$ -Harnstoff wird mit Wasser ausgespült. 15 Minuten nach der Einnahme des Substrats wird wieder eine Atemgasprobe in einem mit Aluminiumfolie beschichteten 250ml-Beutel genommen und gemessen. Unter diesen Bedingungen kann als cut-off-Wert für eine *Helicobacter pylori*-Infektion  $\text{DOB} = 5 \text{ ‰}$  angenommen werden. Die Autoren zeigten, daß die Atemgas-Proben in den 250 ml-Beuteln ein Jahr lang aufbewahrt werden können.

#### 3.2. Massenspektrometrische Analysatoren

Isotope Ratio-Massenspektrometer (IRMS) haben sich als für  $^{13}\text{C}$ -Atemtests geeignete Geräte hoher Empfindlichkeit und Genauigkeit erwiesen. Die Reinigung des Kohlendioxids durch Kondensation mittels flüssigen Stickstoffs ist jedoch kostspielig und zeitraubend und erfordert qualifiziertes Bedienungspersonal. Die Substitution der Kühlung mit flüssigem Stickstoff durch eine gaschromatographische Abtrennung des Kohlendioxids aus der Atemluft hat zu robusteren und verlässlicheren Geräten geführt, die einen hohen Probendurchsatz erlauben und deshalb bevorzugt in großen Kliniken und in analytischen Zentren eingesetzt werden (Braden B, Duan LP, Caspary WF et al. 1994).

Im Bestreben, kompakte und robuste Massenspektrometer für  $^{13}\text{C}$ -Atemtests bereitzustellen, hat das schon 1953 von Wolfgang Paul erdachte Quadrupol-Massenspektrometer eine Renaissance erfahren. Bei diesen Geräten läuft der Ionenstrahl in der Mitte und parallel zu vier — im Querschnitt betrachtet — an den Ecken eines Quadrats angeordneten Stabelektroden, die so an Hochfrequenz angeschlossen sind, daß jeweils zwei einander diametral gegenüberliegende Stäbe die gleiche Polarität besitzen. Bei einer bestimmten Wechselfrequenz und -spannung kann eine solche Anordnung nur von Ionen einer bestimmten Masse passiert werden, während alle anderen Ionen zu Schwingungen wachsender Amplitude angeregt und schließlich an einer der Stabelektroden neutralisiert werden.

Bezüglich weiterer Informationen über massenspektrometrische Methoden siehe Schröder E (1991), Johstone R (1996) und Leodolter A (1997).

#### 3.3. Optisch-spektrometrische Analysatoren

Braden B, Haisch M, Duan LP et al. (1994) waren die Ersten, welche die Massenspektrometrie als Mittel der Messung von  $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ -Verhältnissen in der Atemluft durch die nichtdispersive Infrarotspektroskopie ersetzt haben. Koletzko S, Haisch M, Seeboth E et al. (1995) haben die Leistungsfähigkeit der nichtdispersiven Infrarotspektroskopie und der konventionellen Massenspektrometrie bei der Diagnose von *Helicobacter pylori*-Infektionen mit Hilfe des  $^{13}\text{C}$ -Harnstoff-Atemtests miteinander verglichen und fanden eine enge Korrelation zwischen den Ergebnissen der beiden Methoden. Alle nach Ausweis des spezifischen IgG-Antikörper-Titers ( $\text{SYN}^{\text{elias}}$ ) bzw. der antralen Biopsie (Urease-Test und histologische Untersuchung) *Helicobacter pylori*-positiven Probanden zeigten  $\text{DOB}$ -Werte oberhalb von 11 ‰ in allen 15 und 30 Minuten nach der Aufnahme von 75 mg in 0,033-molarer Zitronensäure gelöstem  $^{13}\text{C}$ -Harnstoff genommenen Proben.

Vielversprechende Ergebnisse erhielten auch Ohara S, Kato M, Asaka M et al. (1989) beim Vergleich von nichtdispersiver Infrarotspektrometrie (UbiT-100, Otsuka Electronics Co. Ltd., Hirahata, Japan) und Massenspektrometrie (ABCA-G, Europa Scientific, Crewe, United Kingdom) bei der Diagnose von *Helicobacter pylori*-Infektionen. 10, 20, 30, 45 und 60 Minuten nach Verabreichung von 100 mg in Wasser gelöstem  $^{13}\text{C}$ -Harnstoff wurden Atemluft-Proben genommen und gemessen. Die Probanden wurden gebeten, 10 Sekunden lang die Luft anzuhalten und dann auszuatmen, um Atemluft-Proben zu gewinnen mit einem Kohlendioxid-Gehalt von mindestens 2 Vol-%. Wie meist üblich wurde die Atemluft in 250ml-Beuteln gesammelt. Regressionsanalysen an mehr als 2000 Proben erwiesen eine ausgezeichnete Korrelation ( $r = 0,992$ ) der nach den beiden Methoden gewonnenen Werte. Dabei war die Übereinstimmung bei Proben mit mehr als 2 Vol-% Kohlendioxid in der Atemluft deutlich besser als bei Proben mit geringerem Kohlendioxid-Gehalt. Es zeigte sich, daß die 20 Minuten nach der Einnahme des Substrats genommenen Atemgas-Proben für die Diagnose von *Helicobacter pylori*-Infektionen geeignet sind. Da die nichtdispersive infrarotspektroskopische Messung bei dem verwendeten Gerät sechs Minuten in Anspruch nimmt, dauert die gesamte Prozedur des  $^{13}\text{C}$ -Harnstoff-Atemtests weniger als 30 Minuten. Außerdem sind die Geräte billiger, kompakter und leichter zu bedienen als Massenspektrometer und ermöglichen die Ausführung des Atemtests während des Aufenthalts des Patienten in der Arztpraxis.

Higashi Y, Ohara H, Naruki Y et al. (1996) beschrieben ein neues Laserspektrometer mit abstimmbarem Diodenlaser für die Isotopenanalyse des Kohlenstoffs im Kohlendioxid der Atemluft und bewerteten seine Eignung für  $^{13}\text{C}$ -Atemtests mit [ $^{13}\text{C}$ ]Harnstoff, [ $^{13}\text{C}$ ]Methacetin und [ $^{13}\text{C}$ ]Glycin als Substraten durch Vergleich mit der Massenspektrometrie. Die nach den beiden Methoden gewonnenen Meßergebnisse zeigten einen ausgezeichneten Korrelation ( $r = 0,996$ ).

Fischer (1998) beschrieb ein neues Verfahren zur Kalibrierung nichtdispersiver Infrarot-Spektralanalysatoren, nach dem bei jeder Kalibrierung Meßzelle und Vergleichszelle entweder evakuiert oder mit einem infrarotinaktiven Gas gefüllt werden, wobei das Driften des Geräts korrigiert wird, indem zunächst durch Justieren des elektronischen Offsets der Nullpunkt eingestellt wird und dann ein nichtselektiv schwächendes Infrarotfilter, eine Blende, ein Spalt oder ein Sieb in den Strahlengang der Meßzelle gerückt wird. Die sich dann einstellenden Meßsignale werden durch Justieren der elektronischen Verstärkung an den Strahlungsempfängern bei jeder Kalibrierung wieder auf dieselben Werte eingestellt.

Eine weitere Neuerung bei der Kalibrierung von nichtdispersiven Infrarot-Spektralanalysatoren wurde von Fischer H und Kuhlmann B (1998) vorgeschlagen: Zunächst wird die Meßzelle mit dem vom Meßgas freien Gas bzw. Gasgemisch — beim  $^{13}\text{C}$ -Atemtest also mit  $\text{CO}_2$ -freier Luft — gefüllt. Es folgt die Aufnahme der Meßsignale für  $\text{CO}_2$ -Konzentration und  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Verhältnis, welche die Koordinaten eines ersten Punkts der Kalibrierkurve bilden. Dann wird der in der Meßküvette bzw. in den Meßküvetten befindlichen Luft portionsweise Meßgas mit bekannter  $\text{CO}_2$ -Konzentration und bekannter Isotopenzusammensetzung des Kohlenstoffs zudosiert. Nach Zufuhr jeder dieser Portionen werden dann erneut die Meßsignale für  $\text{CO}_2$ -Konzentration und  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Verhältnis aufgenommen und so die Koordinaten für beliebig viele weitere Punkte der Kalibrierkurve gewonnen.

Elektronik Mechanik Gerätebau GmbH, Westerdeich, Bremen, Bundesrepublik Deutschland (1997) beschrieben eine Methode zur Kalibrierung von Isotopenanalysatoren im Hinblick auf den Einfluß der Konzentration des Meßgases in einem Gasgemisch auf die Meßsignale für das Isotopenverhältnis, z. B. der  $\text{CO}_2$ -Konzentration in der Atemluft auf die Meßsignale für das  $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ -Verhältnis. Dabei wird die Meßküvette zunächst mit einem Gasgemisch relativ hoher, bekannter Meßgaskonzentration und bekannter Isotopenzusammensetzung dieses

Meßgases gefüllt, bei  $^{13}\text{C}$ -Atemtests also mit Luft eines  $\text{CO}_2$ -Gehalts an der oberen Grenze des bei der Messung zu erwartenden Bereichs und einem  $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ -Verhältnis in diesem Bereich. Die Registrierung der sich dann einstellenden Meßsignale führt zu den Koordinaten eines ersten Punkts der Kalibrierkurve ( $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ -Verhältnis versus  $\text{CO}_2$ -Konzentration); alle weiteren Punkte der Kalibrierkurve werden durch schrittweises Zudosieren von meßgasfreiem Gas gewonnen.

Die Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd. (1995) hat ein Verfahren zur Kalibrierung nicht-dispersiver Infrarotanalysatoren in Bezug auf den Einfluß der  $^{12}\text{C}$ -Konzentration auf die gemessenen  $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ -Verhältnisse vorgeschlagen: Ausgehend von den bei der Kalibrierung mit Gasen bekannter  $^{12}\text{C}$ - und  $^{13}\text{C}$ -Konzentrationen gewonnenen Meßsignalen werden normalisierte  $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ -Verhältnisse definiert, mit deren Hilfe der Einfluß der  $^{12}\text{C}$ -Konzentration auf die an den Proben gemessenen  $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ -Verhältnisse eliminiert werden kann.

Selektivität und Empfindlichkeit nichtdispersiver Infrarot-Isotopenanalysatoren lassen sich erheblich erhöhen, indem zwischen Meßküvette und Empfänger für das seltenere Isotop ein optisches Filter angeordnet wird, das mit dem Meßgas mit dem reinen, häufigeren Isotop, beim  $^{13}\text{C}$ -Atemtest also mit  $^{12}\text{CO}_2$ , gefüllt ist (Mannesmann AG, Düsseldorf, Bundesrepublik Deutschland 1993). Der Effekt des Herausfilterns solcher Frequenzbereiche, in denen das Meßgas mit dem häufigeren Isotop absorbiert, tritt auch ein, wenn beide Empfänger in einem Strahlengang angeordnet werden, der für das häufigere Isotop vor dem für das seltenere Isotop und so zugleich als optisches Filter wirkend.

Die Fischer Analysen Instrumente GmbH, Leipzig (1997) hat Gebrauchsmusterschutz erworben für einen Kohlenstoffisotopenanalysator, der aus einem nichtdispersiven Infrarotspektrometer, einem Gasmanagementsystem, einer digitalen Eingabe/Ausgabe-Einheit, einer Bus-Schnittstelle und einer externen PC-Einheit mit Bediensoftware besteht (vgl. die Abb. 6, 7 und 8).

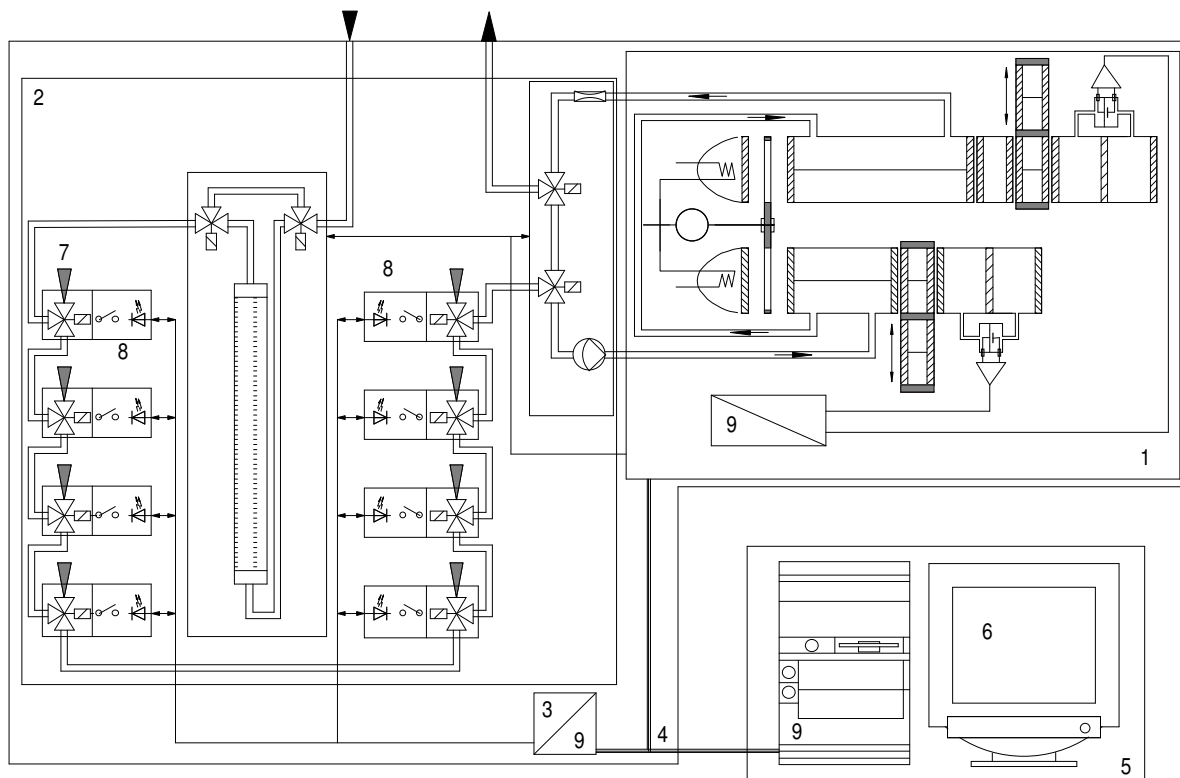
Das nichtdispersive Infrarotspektrometer 1 und die digitale Eingabe/Ausgabe-Einheit 3 steuern ein im Gasmanagementsystem 2 integriertes Probeneinlaßsystem 7 und ein Probenkontrollsystem 8 an. Das Infrarotspektrometer 1, das Gasmanagementsystem 2, die digitale Eingabe/Ausgabe-Einheit 3 und die Bus-Schnittstelle 4 sind in einem kompakten und robusten Gehäuse angeordnet und über ein Kabel mit der externen PC-Einheit verbunden. Alle Moduln des Geräts sind mit eigenen Microcontrollern 9 ausgestattet, die über die Bus-Schnittstelle 4 mit der externen PC-Einheit 5 kommunizieren. Eine Einsteckkarte im PC übernimmt im Zusammenwirken mit der Bediensoftware 6 die Steuerung des gesamten Meßvorgangs und führt den Bediener auf dem Bildschirm des PC. Das Gaskreislaufsystem erlaubt ein rasches und vollständiges Wechseln des Gasinhalts der Meßküvetten.

Neu an dem Kohlenstoff-Isotopenanalysator FANci2 der Fischer Analysen Instrumente GmbH ist, daß das nichtdispersive Infrarotspektrometer 1, das Gasmanagementsystem 2, das digitale Eingabe/Ausgabe-System 3 und die Bus-Schnittstelle 4 in einem kompakten und robusten Gehäuse angeordnet sind und mit der externen PC-Einheit 5 kommunizieren, daß jeder Modul mit einem separaten Microcontroller 9 ausgestattet ist und daß die letzteren mit der externen PC-Einheit 5 über die Bus-Schnittstelle 4 miteinander kommunizieren.

Das Gerät ist einfach und sicher in der Handhabung und arbeitet dank eines im Gasmanagementsystem integrierten Probenerkennungssystems nahezu störungsfrei. Integrierte Prüfroutinen ermöglichen die Fehlerfrüherkennung. Beheizte Gaswege sowie die im Interesse der Tropentauglichkeit vorgesehene Thermostatierung auf  $50^{\circ}\text{C}$  verhindern die Kondensation von Restfeuchte.

Das Probenvolumen beträgt 300 ml. Acht Atemgasbeutel können gleichzeitig angeschlossen werden. Der Probendurchsatz beträgt 40 Proben pro Stunde. Der Meßfehler ist kleiner als 0,3 ‰, liegt also im Bereich der normalen Schwankungen der Isotopenzusammensetzung des Kohlenstoffs in der Atemluft. Somit erfüllt das Gerät FANci2 auch in dieser Hinsicht die an ein  $^{13}\text{C}$ -Atemtestgerät zu stellenden Anforderungen.

Braden B, Caspari WF und Lembcke B (1999) bestätigten dies, indem sie 63 männliche und 79 weibliche Patienten mit dyspeptischen Symptomen mit Hilfe des  $^{13}\text{C}$ -Harnstoff-Atemtests auf eine Helicobacter pylori-Infektion hin untersuchten, wobei die Atemgas-Proben sowohl massenspektrometrisch als auch mittels des nichtdispersiven Infrarotspektrometers FANci2 gemessen wurden. Es zeigte sich eine ausgezeichnete Übereinstimmung der nach den beiden Methoden gewonnenen Ergebnisse. In Bezug auf die Massenspektrometrie als Goldstandard ergab FANci2 eine Sensitivität von 97,8 % und eine Spezifität von 98,9 % für den Nachweis der Helicobacter pylori-Infektion.



**Abbildung 6**

Der Kohlenstoffisotopenanalysator FANci2 von Fischer ANalyseninstrumente (FAN) GmbH, Leipzig.

- 1 nichtdispersives Infrarotspektrometer
- 2 Gasmanagementsystem
- 3 digitale Eingabe/Ausgabe-Einheit
- 4 Bus-Schnittstelle
- 5 externe PC-Einheit
- 6 Bediensoftware
- 7 Probeneinlaßsystem
- 8 Probenkontrollsystem
- 9 Microcontroller

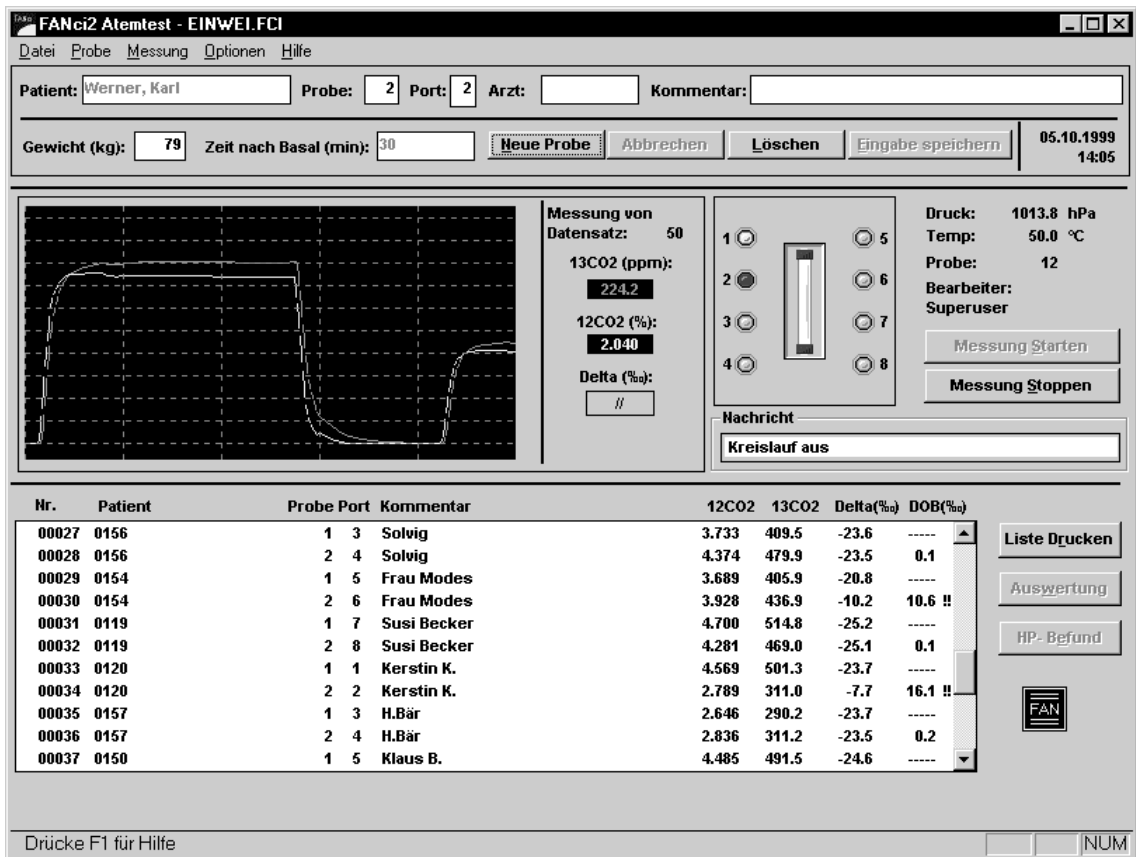


Abbildung 7

Arbeitsfenster des Kohlenstoffisotopenanalysators FANci2 vor der Messung des <sup>13</sup>CO<sub>2</sub>/<sup>12</sup>CO<sub>2</sub>-Verhältnisses.

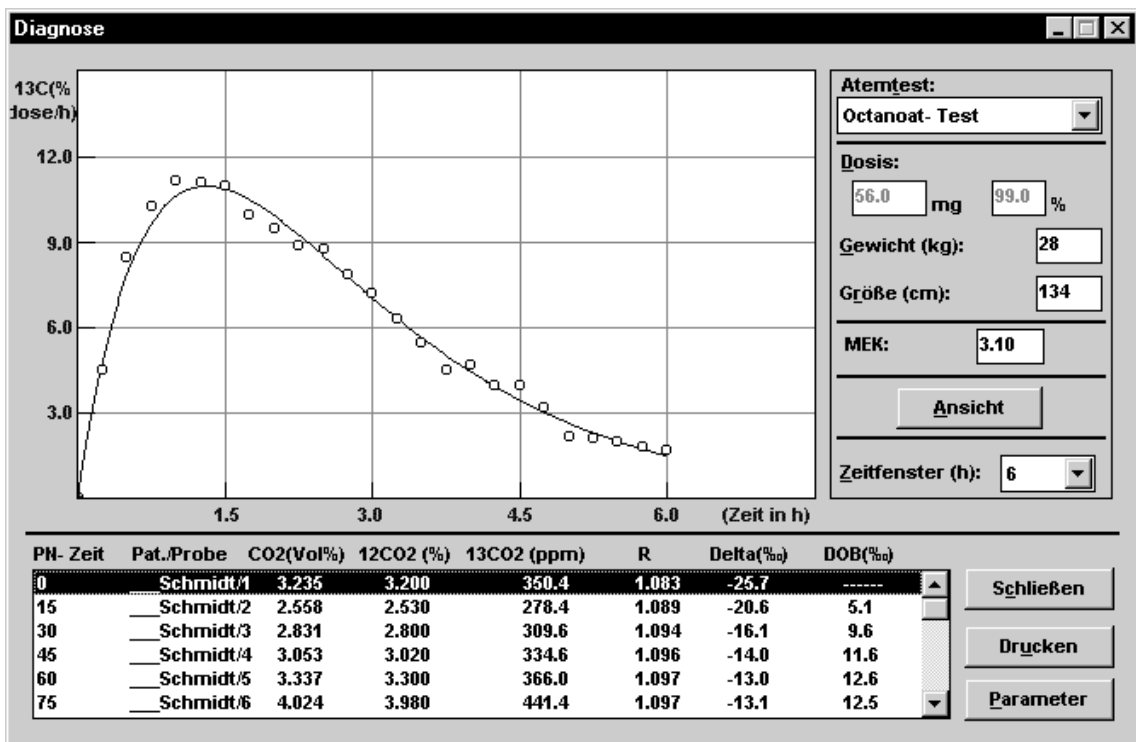


Abbildung 8

Arbeitsfenster des Kohlenstoffisotopenanalysators FANci2 im Stadium der Darstellung der Ergebnisse eines <sup>13</sup>C-Atemtests.

Nach MIC Medical Instrument Corporation (1994) sollen sich Vorteile bei der Messung von  $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ -Verhältnissen in Gasen ergeben, wenn die beiden gepulsten Infrarotstrahlen zuerst mit den isopenreinen Gasen  $^{13}\text{CO}_2$  bzw.  $^{12}\text{CO}_2$  gefüllte Küvetten passieren und dann auf ein zweites, durch ein Kondensatormikrofon miteinander verbundenes Küvettenpaar fallen, in dem sich die zu messende Gasprobe befindet. Durch Variieren des Drucks in einer der zuerst durchstrahlten Küvetten wird das Minimum des Signals am Kondensatormikrofon aufgesucht und zu einem in entsprechender Weise gewonnenen Referenzsignal in Beziehung gesetzt.

Schließlich soll auf einige in jüngster Zeit erzielte Fortschritte auf dem Gebiete der allgemeinen Gasanalytik hingewiesen werden, die auch für die  $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ -Analyse bedeutsam sind bzw. werden könnten:

So beschreibt Fabinski (1992) in einer Übersichtsarbeit Methoden zur automatischen Überprüfung und Nachjustierung von Gasanalysatoren mit Kalibrierküvetten und Umgebungsluft als internem Standard, bei denen auf strömende Prüfgase verzichtet werden kann.

Palocz-Andresen M (1995) erwarb ein Patent auf einen nichtdispersiven Infrarot-Gasanalytator mit einem Chopper zur periodischen Unterbrechung der Infrarotstrahlung, der in Richtung einer Drehachse gesehen eine Außenkontur und senkrecht dazu eine zylindrische Öffnung aufweist, wobei der Querschnitt dieser Öffnung in Durchmesser und Form dem freien Querschnitt der Meßküvette entspricht, so daß in einer ersten Stellung die Infrarotstrahlung ungehindert hindurchtreten kann, während in einer zur ersten Stellung senkrechten Stellung die gesamte Infrarotstrahlung unterbrochen ist.

Die Fuji Electric Co., Ltd., Kawasaki, Kanagawa, Japan (1995) erwarb Patentschutz für einen nichtdispersiven Infrarot-Gasanalytator mit Detektorzellen, die durch einen Gasströmungskanal miteinander verbunden sind, in welchem sich eine Thermosensor-Anordnung befindet, mit deren Hilfe die Geschwindigkeit der Gasströmung in diesem Kanal gemessen wird. Das Neue besteht darin, daß diese Thermosensor-Anordnung aus mehreren, soweit voneinander entfernt angeordneten Thermosensoren besteht, daß die thermokonduktive Koppelung zwischen ihnen keine Rolle spielt, während jeder einzelne Thermosensor aus zwei so eng benachbarten Thermolementen zusammengesetzt ist, daß eine thermische Koppelung zwischen ihnen besteht.

Die Firma Siemens AG (1997) hat ein Patent genommen auf einen Infrarot-Gasanalytator mit einer Einrichtung zur Fokussierung der in den Detektor eintretenden Meßstrahlung, die aus einer Spiegeloptik mit streifender Reflexion besteht. Ein weiteres Patent der Firma Siemens AG (1997a) betrifft einen nichtdispersiven Infrarot-Gasanalytator mit zwei Zerhackern zur Modulation der Meßstrahlung mit unterschiedlicher Frequenz und/oder Phasenlage und einer Schaltung, die das Meßsignal entsprechend diesen Modulationen in zwei Signalanteile spaltet.

Eine neue, speziell für die Messung von Spurengehalten in Gasen mittels Infrarotspektroskopie geeignete Methode hat sich Erno Raumfahrttechnik GmbH (1993) unter Patentschutz stellen lassen: Die eine Hälfte eines Winkelspiegels wirft einen Infrarotstrahl in eine kugelförmige Meßkammer mit verspiegelten Innenwänden, wo er viele Male reflektiert wird, bevor er die Kammer über die andere Hälfte des Winkelspiegels in Richtung Strahlungsdetektor wieder verläßt. Der lange Strahlenweg im Meßgas gewährleistet eine hohe Nachweisempfindlichkeit.

Einen ähnlichen Weg geht die Aktieselskabet Brüel & Kjaer, Naerum, DK (1989) mit ihrem photoakustischen Gasanalytator: Die gekrümmten Wände der Meßkammer bestehen aus ei-

nem Material hoher Wärmeleitfähigkeit und sind mit einer Licht reflektierenden Schicht bedeckt, wobei die Strahlung zur Erzeugung einer Mehrfachreflexion divergent in die Meßkammer einfällt.

Die Ingenieurhochschule Köthen, Bundesrepublik Deutschland (1988) hat Patentschutz erworben auf eine Anordnung zur Korrektur des statischen Übertragungsverhaltens zweikanaliger nichtdispersiver Absorptionsspektrometer, die sich durch eine besondere Ausgestaltung der Chopperscheibe und der Schaltungsanordnung sowie durch die Verknüpfung der beiden Signalstrecken der Schaltungsanordnung mit einem Multiplikationsglied auszeichnet. Die Anordnung ist auch im Infrarotbereich anwendbar und ermöglicht eine Reduzierung interner und externer Störungen.

Der VEB Junkalor Dessau, Bundesrepublik Deutschland (1988) hat eine Einrichtung zum sowohl betrag- als auch phasenrichtigen Nullabgleich der Meßsignale nichtdispersiver Infrarotanalysatoren vorgeschlagen, die durch ein im Strahlengang angeordnetes, in Richtung der optischen Achse verschiebbares und um diese drehbares, ebenes optisches Ablenkelement gekennzeichnet ist.

Die optogalvanische Spektroskopie mit Laserstrahlung zeichnet sich durch ein hohes Auflösungsvermögen aus. Wenn zwei Kohlendioxid-Laser als Lichtquellen benutzt werden, der eine mit  $^{13}\text{CO}_2$  und der andere mit  $^{12}\text{CO}_2$  arbeitend, funktioniert die Anordnung als Gerät zur Messung von  $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ -Verhältnissen (Murnick PE und Peer BJ (1994)). Dieses Prinzip ist in dem LARA (Laser-Assisted Ratio Alyser)-System von Alimenterics Inc., Morris Plains, USA, verwirklicht.

### 3.4. Automatisierung

Angesichts der rasch wachsenden Bedeutung der  $^{13}\text{C}$ -Atemtests für die medizinische Forschung und Diagnostik nimmt es nicht wunder, daß automatisierte  $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ -Analysatoren auf den Markt drängen. Allerdings zeichnet sich die Tendenz ab, die Automatisierung auf die mit Massenspektrometern ausgestatteten und für den Einsatz in großen Kliniken bzw. in Zentren der klinischen Analytik vorgesehenen  $^{13}\text{C}$ -Atemtestgeräte zu konzentrieren, wo es auf die Bewältigung großer Probenzahlen ankommt, während es bei den nach dem Prinzip der nichtdispersiven Infrarotspektroskopie arbeitenden, vorwiegend in kleineren Kliniken bzw. in Arztpraxen zur Anwendung kommenden Geräten weniger auf einen großen Probendurchsatz, als auf einen niedrigen Preis und eine einfache Bedienung ankommt.

So beschreiben Suehiro M, Kuroda A, Maeda M et al. (1987) ein Mikroprozessor-gesteuertes  $^{13}\text{C}$ -Atemtestgerät, bestehend aus  $\text{CO}_2$ -Reinigung, massenspektrometrischer  $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ -Analyse, Verarbeitung der Meßdaten und Datenausgabe. Entsprechend der von Schoeller EA und Klein PD (1979) ausgearbeiteten Prozedur erfolgt die Reinigung über zwei Kühlfallen. Die erste trocknet die Atemluft durch Kühlung mit einer Aceton-Trockeneis-Mischung, die zweite kondensiert das Kohlendioxid mittels flüssigen Stickstoffs. Nach Abpumpen der anderen Gase wird das Kohlendioxid bei Raumtemperatur freigesetzt und dem Einlaßsystem des Isotope Ratio-Massenspektrometers zugeführt. Die Ventile werden durch einen mit einem Penning-Manometer verbundenen Mikroprozessor gesteuert. Es können fünf bis sechs Proben pro Stunde gemessen werden. Da das Gerät voll automatisiert ist, lassen sich in 24 Stunden 120 bis 144 Proben entsprechend 12 bis 18 Probanden untersuchen. Die Standardabweichung der Meßergebnisse liegt im Bereich von 0,13 und 0,01 ‰ (bei einem Vertrauensbereich von 95 %).

## 4. Fortschritte bei der Anwendung von $^{13}\text{C}$ -Atemtests in der medizinischen Forschung und Diagnostik

### 4.1. Methodologische Fortschritte

#### 4.1.1. Allgemeine Fortschritte auf dem Gebiete der $^{13}\text{C}$ -Atemtests

Lembcke B (1997) bewertete in einem Übersichtsartikel  $^{13}\text{C}$ -,  $^{14}\text{C}$ - und  $\text{H}_2$ -Atemtests als Mittel der gastroenterologischen Forschung und Diagnostik. Wasserstoff, im menschlichen Zellstoffwechsel in Wasser umgewandelt, entsteht im Dünndarm durch bakterielle Metabolisierung von Kohlenhydraten und wird als molekularer Wasserstoff nicht nur mit den Darmgasen, sondern — auf dem Wege über die Blutbahn — auch mit der Atemluft ausgeschieden. Der Wasserstoff-Nachweis in der Atemluft erfolgt gaschromatographisch oder besser mittels elektrochemischer Sensoren mit Wasserstoff-selektiven Membranen, und zwar wenige Minuten nach Aufnahme des Substrats. Als Substrate sind Kohlenhydrate wie D-Xylose, Glukose, Laktose, Laktulose, Stacchyose oder Raffinose einzusetzen. Im Ergebnis solcher  $\text{H}_2$ -Atemtests lassen sich eine Malabsorption von Kohlenhydraten oder eine bakterielle Überbesiedlung des Dünndarms erfassen. Mit Laktulose als Substrat kann die Mund-Zäkum-Transitzeit gemessen werden. Für eine sichere Diagnose einer bakteriellen Überbesiedlung des Dünndarms hat sich der Glukose- $\text{H}_2$ -Atemtests allerdings — wahrscheinlich wegen der Ausbildung einer Mischflora mit differenzierter Aktivität bezüglich des Glukose-Abbaus — als kaum geeignet erwiesen. Es zeichnet sich ab, daß hier der  $^{13}\text{C}$ -Xylose-Atemtest, zumindest in der pädiatrischen Diagnostik, zuverlässigere Ergebnisse liefert (Dellert SF, Nowicki MJ, Farrell MK et al. 1997).

Während  $^{14}\text{C}$ -Atemtests dank der Entwicklungen auf dem Gebiete der  $^{13}\text{C}$ -Atemtests in der gastroenterologischen Forschung und Diagnostik kaum noch eine Rolle spielen, haben sich nach Lembcke (1997)  $^{13}\text{C}$ -Atemtests für folgende Indikationen durchgesetzt:

- Nachweis der Helicobacter pylori-Infektion ( $^{13}\text{C}$ -Harnstoff-Atemtest)
- Ermittlung der Geschwindigkeit der Magenentleerung ( $^{13}\text{C}$ -Acetat-Atemtest für flüssige Nahrung,  $^{13}\text{C}$ -Octanoat-Atemtest für feste Nahrung)
- Diagnose einer bakteriellen Überbesiedlung des Dünndarms ( $^{13}\text{C}$ -Xylose-Atemtest)
- Ermittlung der Demethylierungsfunktion der Leber ( $^{13}\text{C}$ -Aminopyrin- bzw.  $^{13}\text{C}$ -Coffein-Atemtest)
- Diagnose der Pankreas-Funktion bzw. der pankreatischen Steatorrhoe ( $^{13}\text{C}$ -Hiolein-,  $^{13}\text{C}$ -Triolein-, 1,3-Distearyl-2- $^{13}\text{C}$ octanoat-, Cholestearyl- $^{13}\text{C}$ octanoat-Atemtest)

Ein Problem bei der Interpretation von  $^{13}\text{C}$ -Atemtest-Ergebnissen im Dienste der medizinischen Forschung und Diagnostik besteht darin, daß der zeitliche Verlauf der  $^{13}\text{C}$ -Gehalte in der Atemluft nach Verabreichung eines  $^{13}\text{C}$ -markierten Substrats unter sonst gleichen Bedingungen (Menge, Galenik und  $^{13}\text{C}$ -Gehalt des Substrats, Vorbereitung des Probanden auf den Test, Ernährung und Verhalten des Probanden während des Tests usw.) nicht nur von der aktuellen Stoffwechsellage des Probanden abhängig ist. Vielmehr nimmt auch die physische Konstitution des Probanden Einfluß auf den zeitlichen Verlauf der  $^{13}\text{C}$ -Gehalte in dessen Atemluft.

Dies kann zwei Ursachen haben: Zum einen beeinflußt die von Körpermasse M, Körpergröße H, Alter und Geschlecht des Probanden abhängige Geschwindigkeit der Zellatmung BMR (Basal Metabolic Rate) den zeitlichen Verlauf der  $^{13}\text{C}$ -Gehalte in der Atemluft. Für den Fall des  $^{13}\text{C}$ -Harnstoff-Atemtests haben Klein PD, Malaty HM, Czinn SJ et al. (1998) eine Methode zur Eliminierung dieser Einflüsse eingeführt, die prinzipiell dann und nur dann an-

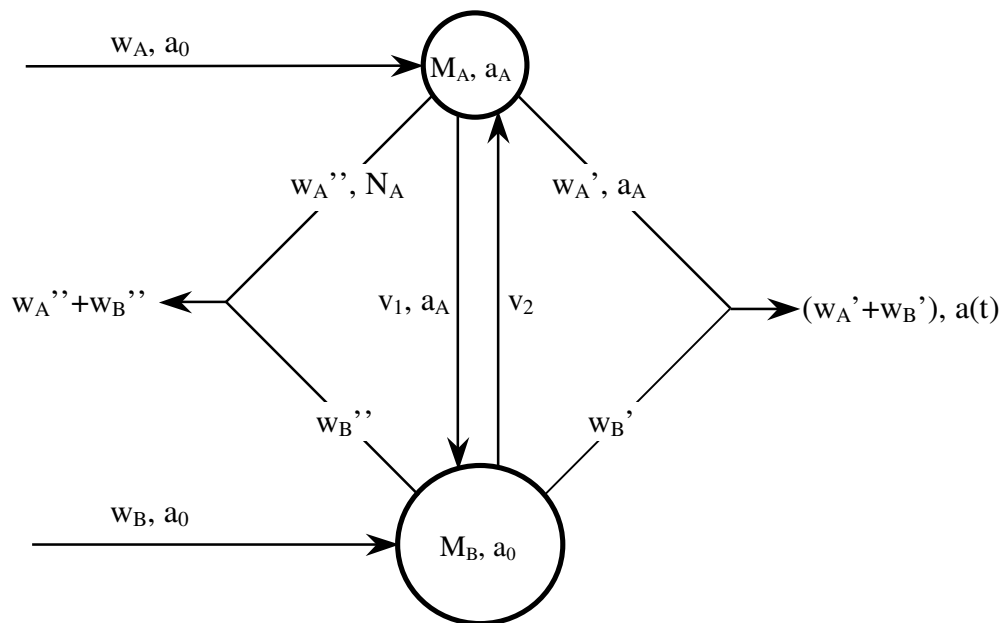
wendbar ist, wenn der markierte Kohlenstoff des Substrats (wie im Falle des  $^{13}\text{C}$ -Harnstoffs) direkt in Kohlendioxid umgewandelt und mit der Atemluft ausgeschieden wird. Insbesondere bei endogenen Substraten wie Kohlenhydraten, Proteinen, Aminosäuren, Glyceriden und Carbonsäuren ist dies jedoch in der Regel nicht der Fall. Der mit  $^{13}\text{C}$  markierte Kohlenstoff tritt bei solchen Substraten vielmehr zunächst in körpereigene Pools ein, erfährt dort eine Isotopenverdünnung und wird erst dann metabolisiert und mit der Atemluft ausgeschieden. Je größer die körpereigenen Pools sind, in die das Substrat bzw. seine Metaboliten eintreten, um so größer wird die Isotopenverdünnung sein, die das  $^{13}\text{C}$  des Substrats erfährt.

Wir stellen hier ein Modell des Kohlenstoff-Stoffwechsels vor, mit dessen Hilfe auch bei  $^{13}\text{C}$ -Atemtests mit Substraten, die in körpereigene Kohlenstoff-Pools eintreten, bevor sie zu Kohlendioxid abgebaut und ausgeatmet werden, Stoffwechsel-Parameter berechnet werden können, die zu einem tieferen Verständnis des Kohlenstoff-Stoffwechsels beitragen können und darüber hinaus eine Eliminierung der Einflüsse der physischen Konstitution des Probanden auf die mit solchen Atemtests gewonnenen Meßergebnisse erlauben (Wetzel K und Fischer H 1998a).

Das Modell (Abb. 9) unterscheidet zwischen einem Kohlenstoff-Pool A der Menge  $M_A$ , der rasch mit dem für den Atemtest verwendeten  $^{13}\text{C}$ -markierten Substrat, mit dem gegebenenfalls mit der Nahrung aufgenommenen Substrat natürlicher Isotopenhäufigkeit  $a_0$  des  $^{13}\text{C}$  und mit biochemisch ähnlichen, ebenfalls mit der Nahrung aufgenommenen Stoffen natürlicher Isotopenzusammensetzung in Stoff- und Isotopenaustausch tritt, und einem viel größeren Kohlenstoff-Pool B der Menge  $M_B$ , der mit dem Pool A im Stoff- und Isotopenaustausch steht. Es wird angenommen, daß der Austausch zwischen den Pools A und B durch wechselseitige Umwandlung der diesen Pools zugehörigen Stoffe zustande kommt, die mit Geschwindigkeiten  $v_1$  bzw.  $v_2$  abläuft, die kleiner sind als die Geschwindigkeit  $w_A$ , mit der dem Pool A zuzuordnende Stoffe mit der Nahrung aufgenommen und mit der Atemluft, dem Urin oder dem Faeces ausgeschieden werden.

Größe und stoffliche Zusammensetzung des Pools A werden von der Natur des Substrats abhängig sein. Bei Triglyceriden als Substraten wird der Pool A wohl hauptsächlich von Mono-, Di- und Triglyceriden, Glycerin und Fettsäuren, möglicherweise auch von Carbonsäuren kleineren Molekulargewichts,  $\alpha$ -Hydroxycarbonsäuren,  $\alpha$ -Ketocarbonsäuren und einigen Aminosäuren rekrutiert werden. Werden  $^{13}\text{C}$ -markierte Aminosäuren oder Proteine als Substrate benutzt, so wird der Pool A aus Aminosäuren,  $\alpha$ -Ketocarbonsäuren, Peptiden und vielleicht auch einigen Carbonsäuren zusammengesetzt sein.  $^{13}\text{C}$ -markierte Mono-, Di-, Oligo- und Polysaccharide als Substrate werden in einen Pool A eintreten, der hauptsächlich aus Mono-, Di- und Oligosacchariden zusammengesetzt ist, während  $^{13}\text{C}$ -markierte Carbonsäuren als Substrate einen hauptsächlich aus Carbonsäuren,  $\alpha$ -Hydroxycarbonsäuren und  $\alpha$ -Ketocarbonsäuren bestehenden Pool A vorfinden werden.

Der Stoffstrom  $v_1$  kommt durch Vorgänge wie Synthese von Triglyceriden aus Glycerin und Fettsäuren, Aufbau von Eiweißen aus Aminosäuren oder die Synthese von Polysacchariden aus Monosacchariden bzw. deren Vorstufen, der Stoffstrom  $v_2$  durch in umgekehrter Richtung ablaufende Prozesse zustande.



**Abbildung 9**

Modell des Kohlenstoff-Stoffwechsels zur Auswertung von  $^{13}\text{C}$ -Atemtests.

$M_A$	Menge der Kohlenstoff-Verbindungen des Pools A, die rasch mit dem Substrat in Stoff- und Isotopenaustausch treten
$M_B$	Menge der Kohlenstoff-Verbindungen des Pools B, die nur langsam mit dem Substrat und mit den Kohlenstoff-Verbindungen des Pools A in Stoff- und Isotopenaustausch treten
$v_1$ bzw. $v_2$	Kohlenstoff-Stoffstrom vom Pool A zum Pool B bzw. vom Pool B zum Pool A
$w_A$ bzw. $w_B$	Kohlenstoff-Stoffstrom der mit der Nahrung aufgenommenen, in den Pool A bzw. in den Pool B eintretenden Verbindungen
$w_A'$ bzw. $w_B'$	Kohlenstoff-Stoffstrom der den Pool A bzw. den Pool B verlassenden und mit dem Kohlendioxid der Atemluft ausgeschiedenen Verbindungen
$w_A''$ bzw. $w_B''$	Kohlenstoff-Stoffstrom der den Pool A bzw. den Pool B verlassenden und mit dem Urin bzw. dem Faeces ausgeschiedenen Verbindungen
$a_0$	natürliche relative Häufigkeit des $^{13}\text{C}$
$a_A$	relative Häufigkeit des $^{13}\text{C}$ im Pool A
$a$	relative Häufigkeit des $^{13}\text{C}$ in der Atemluft

Die mit der Nahrung aufgenommenen und in die Pools A und B eintretenden Stoffströme  $w_A$  und  $w_B$  haben die natürliche Isotopenzusammensetzung  $a_0$ . Über die Größe und den Stoffbestand des Pools B sollen hier keine näheren Betrachtungen angestellt werden. Es genügt anzunehmen, daß der Pool B viel größer ist als der Pool A ( $M_B \gg M_A$ ) und aus Stoffen besteht, die nur sehr langsam mit den Stoffen im Pool A wechselwirken. Dann und nur dann nämlich darf davon ausgegangen werden, daß der vom Pool B zum Pool A fließende Stoffstrom  $v_2$  ebenso wie der den Pool B verlassende und mit der Atemluft ausgeschiedene Stoffstrom  $w_B'$  während der Dauer des  $^{13}\text{C}$ -Atemtests die natürliche  $^{13}\text{C}$ -Häufigkeit  $a_0$  nicht merklich übertreffen wird. Gleiches wird für den Stoffstrom  $w_B''$  gelten, der den Pool B via Urin bzw. Faeces verläßt.

Zu Beginn des  $^{13}\text{C}$ -Atemtests wird dem Probanden — in Abb. 9 nicht dargestellt — die Kohlenstoff-Menge  $M_S$  des jeweiligen Substrats mit der gegenüber der natürlichen Isotopenzusammensetzung  $a_0$  erhöhten  $^{13}\text{C}$ -Häufigkeit  $a_S$  verabreicht, wodurch dem Pool A innerhalb einer kurzen Zeit eine erhöhte  $^{13}\text{C}$ -Häufigkeit  $a_A$  mitgeteilt wird, die in dem Maße wieder auf  $a_0$  abklingt, wie der an  $^{13}\text{C}$  angereicherte Kohlenstoff mit der Atemluft (Stoffstrom  $w_A'$ ) bzw. mit dem Urin und dem Faeces (Stoffstrom  $w_A''$ ) ausgeschieden wird bzw. in den Pool B (Stoffstrom  $v_1$ ) übertritt und dort (wegen  $M_B \gg M_A$ ) auf eine nahe bei  $a_0$  gelegene  $^{13}\text{C}$ -Häu-

figkeit verdünnt wird (vgl. die Abb. 3 und 9). Da bei den hier betrachteten Stoffwechselfvorgängen keine merklichen Isotopieeffekte auftreten und angesichts der ja vorausgesetzten stofflichen Homogenität des Pools A haben die Kohlenstoff–Stoffströme  $w_A'$ ,  $w_A''$  und  $v_1$  zu jeder Zeit  $t$  während des Tests die  $^{13}\text{C}$ –Häufigkeit  $a_A$  des Pools A.

Das vom Probanden ausgeatmete Kohlendioxid rekrutiert sich in zunächst nicht bekannten Anteilen aus den Pools A (Stoffstrom  $w_A'$  mit der  $^{13}\text{C}$ –Häufigkeit  $a_A$ ) und B (Stoffstrom  $w_B'$  mit annähernd der  $^{13}\text{C}$ –Häufigkeit  $a_0$ ); in der Atemluft wird also eine  $^{13}\text{C}$ –Häufigkeit  $a(t)$  gemessen werden, die zwischen  $a_A$  und  $a_0$  liegt.

Von den Stoffmengen, Stoffströmen und  $^{13}\text{C}$ –Häufigkeiten in Abb. 9 wird bei einem  $^{13}\text{C}$ –Atemtest meist lediglich die  $^{13}\text{C}$ –Häufigkeit  $a$  in der Atemluft (in ihrem zeitlichen Verlauf) gemessen. Darüber hinaus sind die natürliche  $^{13}\text{C}$ –Häufigkeit  $a_0$ , die Menge  $M_S$  des Substrats und dessen  $^{13}\text{C}$ –Häufigkeit  $a_S$  bekannt. Danach verbleiben nicht weniger als zwölf Unbekannte, nämlich die Kohlenstoff–Mengen  $M_A$  und  $M_B$ , die Kohlenstoff–Stoffströme  $w_A$ ,  $w_B$ ,  $w_A'$ ,  $w_B'$ ,  $w_A''$ ,  $w_B''$ ,  $v_1$  und  $v_2$  sowie die  $^{13}\text{C}$ –Häufigkeiten  $a_A$  und  $a_A(0)$ .

Um das Modell für die Auswertung von  $^{13}\text{C}$ –Atemtests praktikabel zu machen, bedarf es seiner mathematischen Durchdringung unter Einführung einer Reihe weiterer vereinfachender Annahmen. So ist es sicherlich erlaubt, für die Dauer des Atemtests (höchstens einige Tage), wenn auch nicht in isotopischer, so doch in biochemischer Hinsicht stationäre Verhältnisse anzunehmen. Dann sind alle Stoffströme  $w$  und  $v$  sowie die Poolgrößen  $M_A$  und  $M_B$  — von Schwankungen im Rhythmus der Nahrungsaufnahme abgesehen — zeitunabhängig und  $v_1$  und  $v_2$  geraten in Übereinstimmung:

$$v_1 = v_2 = v \quad (1)$$

Weiterhin soll angenommen werden, daß die Geschwindigkeit der Resorption des Substrats groß ist im Vergleich mit der Geschwindigkeit seines Abbaus im Organismus des Probanden. Diese Annahme wird oft gemacht bei der Auswertung von  $^{13}\text{C}$ –Atemtests und wird in allen den Fällen erlaubt sein, wo die Kurve, welche die Abhängigkeit der  $^{13}\text{C}$ –Häufigkeit  $a$  in der Atemluft von der Zeit  $t$  beschreibt, wie in Abb. 3 im Bereich kurzer Zeiten steil ansteigt und (nach Durchlaufen eines Maximums) im Bereich längerer Zeiten flach abfällt und sich dann asymptotisch wieder dem Wert  $a_0$  angleicht. Unter diesen — bei vielen  $^{13}\text{C}$ –Atemtests durchaus gegebenen — Umständen gilt für  $t = 0$  das Isotopenverdünnungsgesetz:

$$M_S a_S + M_A a_0 = (M_S + M_A) a_A(0), \quad (2)$$

worin  $a_A(0)$  die (hypothetische)  $^{13}\text{C}$ –Häufigkeit im Pool A ist, die sich unmittelbar nach der Applikation des Substrats einstellt, wenn dessen Eintritt in diesen Pool augenblicklich erfolgen würde.

Der Strom

$$P = w_A' + w_B' \quad (3)$$

des mit der Atemluft ausgeschiedenen Kohlendioxids läßt sich in bekannter Weise aus Körpermasse  $W$ , Körpergröße  $H$ , Alter und Geschlecht des Probanden berechnen. Frühere Untersuchungen über die  $\text{CO}_2$ –Ausscheidung mit der Atemluft wurden allein auf die Körperoberfläche gestellt (Haycock B, Schwartz GJ und Wisotski DH 1978) und benutzten einen einheitlichen Wert von  $300 \text{ mmol pro m}^2 \text{ Körperoberfläche und Stunde}$  (Shreeve WW, Cerasi E und Luft R 1970). Spätere Untersuchungen (Schofield WN 1985; Klein PD, Malaty HM,

Czinn SJ et al. 1998) zeigten, daß außer der Größe der Körperoberfläche auch Alter und Geschlecht von erheblichem Einfluß auf die CO<sub>2</sub>-Ausscheidung des Menschen sind. Danach läßt sich die basale Stoffwechselgeschwindigkeit BMR (Basal Metabolic Rate) durch Gleichungen der Form

$$\text{BMR} = \alpha W + \beta H + \gamma \quad (4)$$

beschreiben, worin  $\alpha$ ,  $\beta$  und  $\gamma$  Koeffizienten sind, deren Zahlenwerte in Tab. 3 angegeben sind. (Diese Zahlenwerte beziehen sich auf den (üblichen) Fall, daß BMR in MJ/d, W in kg und H in m gemessen werden.)

Alter [Jahre]	männlich			weiblich		
	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$
3 – 10	0,082	0,542	1,736	0,071	0,677	1,533
>10 – 18	0,068	0,574	2,157	0,0035	1,948	0,837
>18 – 30	0,063	- 0,042	2,943	0,057	1,184	0,411
>30 – 60	0,048	- 0,011	3,670	0,0344	0,006	3,530

**Tabelle 3**

Zahlenwerte der Koeffizienten  $\alpha$ ,  $\beta$  und  $\gamma$  in Gl. 4 in Abhängigkeit von Alter und Geschlecht (nach Klein PD, Malaty HM, Czinn SJ et al. 1998).

Aus BMR in Gl. 4 läßt sich der Strom P des mit der Atemluft ausgeschiedenen Kohlendioxids mit Hilfe der Beziehung

$$P = 2,49 \text{ BMR mol/d} \quad (5)$$

errechnen, wobei BMR wie in Gl. 4 in MJ/d einzusetzen ist (Klein PD, Malaty HM, Czinn SJ et al. 1998).

Für den Pool A lassen sich aus Abb. 9 die Kohlenstoff-Bilanz

$$w_A + v_2 = w_A' + w_A'' + v_1 \quad (6)$$

und die <sup>13</sup>C-Bilanz

$$- M_A da_A/dt = (w_A + v_2) a_0 - (w_A' + w_A'' + v_1) a_A \quad (7)$$

ablesen; ferner gilt die <sup>13</sup>C-Bilanz

$$w_A' a_A + w_B' a_0 = (w_A' + w_B') a \quad (8)$$

Im Sinne des zur Begründung der Gl. 2 Gesagten muß diese <sup>13</sup>C-Bilanz auch für  $t = 0$  zutreffen:

$$w_A' a_A(0) + w_B' a_0 = (w_A' + w_B') a(0) \quad (9)$$

worin  $a(0)$  diejenige <sup>13</sup>C-Häufigkeit ist, die sich nach unendlich rascher Durchmischung des Substrats mit dem Pool A in der Atemluft einstellen würde. Die Größe  $a(0)$  läßt sich durch Extrapolation des abfallenden Teils der Kurve in Abb. 3 auf  $t = 0$  ermitteln.

Mit den Gl. 1, 2, 3, 6, 7, 8 und 9 sind wir bei sieben Bestimmungsgleichungen für neun Un-

bekannte ( $M_A$ ,  $w_A$ ,  $w_A'$ ,  $w_B'$ ,  $w_A''$ ,  $w_B''$ ,  $v$ ,  $a_A$  und  $a_A(0)$ ) angelangt. Im folgenden werden die Unbekannten  $w_A'$ ,  $w_B'$ ,  $w_A''$ ,  $w_B''$  sowie  $a_A(0)$  eliminiert. Zunächst wird mittels Gl. 6  $w_A''$  eliminiert;  $v_1$  und  $v_2$  werden — unter Berücksichtigung von Gl. 1 — durch  $v$  ersetzt. Aus Gl. 7 entsteht dann :

$$M_A da_A/dt = (w_A + v) (a_A - a_0) \quad (10)$$

Der Stoffstrom  $w_B'$  wird mit Hilfe von Gl. 3 eliminiert; Gl. 8 wandelt sich so um in

$$w_A' a_A + (P - w_A') a_0 = P a$$

oder

$$w_A' (a_A - a_0) = P (a - a_0)$$

oder

$$w_A' = P (a - a_0) / (a_A - a_0) \quad (11)$$

In analoger Weise erhält man aus Gl. 9:

$$w_A' = P (a(0) - a_0) / (a_A(0) - a_0) \quad (12)$$

Aus den Gl. 11 und 12 folgt schließlich:

$$(a - a_0) / (a_A - a_0) = (a(0) - a_0) / (a_A(0) - a_0) \quad (13)$$

Die Größe  $a_A(0)$  in Gl. 13 läßt sich mit Hilfe von Gl. 2 eliminieren, nach der gilt:

$$a_A(0) = (M_S a_S + M_A a_0) / (M_S + M_A) \quad (14)$$

Die Einführung dieses Ausdrucks für  $a_A(0)$  in Gl. 13 liefert schließlich

$$(a - a_0) / (a_A - a_0) = (M_S + M_A) (a(0) - a_0) / M_S (a_S - a_0) \quad (15)$$

Mit den Gl. 10 und 15 sind wir bei zwei Bestimmungsgleichungen für die vier Unbekannten  $M_A$ ,  $a_A$ ,  $w_A$  und  $v$  angelangt.

Weitere Bestimmungsgleichungen lassen sich schwerlich gewinnen, so daß ein tieferes Eindringen in die Stoffwechselfvorgänge aufgrund des hier beschriebenen Modells wohl nur durch gewisse, bei der Ausführung vieler  $^{13}\text{C}$ -Atemtests nicht übliche Vorkehrungen ermöglicht werden kann. Folgende Maßnahmen solcher Art liegen nahe:

Erstens können die Tests im Zustande des Fastens ausgeführt werden, was ja gelegentlich um der Wahrung reproduzierbarer Bedingungen willen auch schon geschieht. In diesem Falle wird  $w_A$  gleich Null, und wir haben eine Unbekannte weniger. Die mit dieser Maßnahme verbundene Belastung des Probanden läßt sich mildern: Ballaststoffe wie Kleie bzw. Gelatine mit einem zu vernachlässigenden Anteil an verdaulichen Stoffen, Vitamine, Nährsalze und Wasser darf er ja aufnehmen.

Allerdings können unter den Bedingungen des Fastens Zweifel an der zeitlichen Konstanz von  $M_A$  aufkommen.

Zweitens kann der Proband während des Tests mit einer in Menge und Gehalt an verdaulichen Kohlenstoff-Verbindungen definierten Diät versorgt werden. Falls sich entscheiden läßt, welche Bestandteile dieser Nahrung dem Stoffstrom  $w_A$  eindeutig zuzuordnen sind, reduziert sich die Zahl der Unbekannten um  $w_A$ . Da eine sichere Zuordnung dieser Art nicht in jedem Falle ohne weiteres möglich ist, empfiehlt es sich, nach Möglichkeit diejenige Substanz als Energie- und ggf. auch als Stickstoffquelle zu verabreichen, die als Substrat appliziert wird, also etwa beim  $^{13}\text{C}$ -Glucose-Atemtest Glucose natürlicher Isotopenzusammensetzung oder beim  $^{13}\text{C}$ -Glycin-Atemtest Glycin natürlicher Isotopenzusammensetzung usw. Die Koppelung einer solchen Diät mit Ballaststoffen sowie mit Vitaminen, Nährsalzen und Wasser ist selbstverständlich auch bei diesen Varianten möglich.

Jede Modellierung geht mit Vereinfachungen einher. Im vorliegenden Falle sind es hauptsächlich die folgenden:

- 1.) Es werden nur zwei Kohlenstoff-Pools unterschieden, ein Pool A großer und ein Pool B geringer Stoffwechsel-Aktivität. In Wirklichkeit aber wird es im menschlichen (wie im tierischen) Organismus viele Kohlenstoff-Pools geben, deren metabolische Aktivität von der hohen, die wir dem Pool A zuschreiben, bis zu einer sehr niedrigen reicht. Im Grenzfall kommt es zu einer Speicherung auf eine Zeit, die mit der Lebenszeit des Probanden vergleichbar ist, wie das etwa beim Kollagen oder beim Kalziumcarbonat der Knochen der Fall ist. Ohne experimentelle Untersuchungen ist es schwierig abzuschätzen, welchen Einfluß diese Vereinfachung auf die Verläßlichkeit der mit Hilfe des Modells gewonnenen Daten für  $M_A$  und  $v$  hat.
- 2.) Es wird angenommen, daß der Stoffstrom  $v_2$  während einer Zeitspanne von mehreren Stunden bis zu einigen Tagen die natürliche  $^{13}\text{C}$ -Häufigkeit  $a_0$  beibehält. Diese Annahme wird bei vielen Tracerexperimenten in Biochemie und Medizin gemacht und ist um so besser erfüllt, je größer  $M_B$  im Vergleich  $M_A$  ist.
- 3.) Es wird angenommen, daß die Geschwindigkeit der Resorption des Substrats groß ist im Vergleich mit dessen Abbau. Inwieweit diese Vereinfachung zulässig ist, läßt sich zwar nicht allgemein sagen, wohl aber anhand des Kurvenverlaufs im  $a(t)$ - $t$ -Diagramm der Abb. 3 (steiler Anstieg / flacher Abfall des  $a(t)$  mit wachsendem  $t$ ) abschätzen.
- 4.) Wiewohl Nahrungsaufnahme und Verdauung (außer bei parenteraler Ernährung) rhythmisch erfolgen, wird im Modell ein kontinuierlicher Ablauf dieser Vorgänge vorausgesetzt. Die aus dieser Vereinfachung resultierenden Fehler in  $M_A$  und  $v$  lassen sich verringern, indem während des Tests Nahrung in kleinen Portionen und in kurzen, regelmäßigen Zeitabständen eingenommen oder gefastet wird.

Ungeachtet der genannten Fehlerquellen erlaubt das hier vorgestellte Modell die Ermittlung von sonst nicht oder nur auf invasivem Wege zugänglichen Stoffwechsel-Parametern wie  $M_A$  und  $v$  für Substrate von  $^{13}\text{C}$ -Atemtests, die in körpereigene Pools des Probanden eintreten, bevor ihre Abbauprodukte in Form von Kohlendioxid ausgeatmet werden. Auf der Grundlage solcher Stoffwechsel-Parameter werden tiefere Einblicke in den Stoffwechsel möglich.

Es liegt auf der Hand, daß solche Informationen nicht nur von wissenschaftlichem Interesse, sondern auch geeignet sind, Selektivität und Sensitivität der aus  $^{13}\text{C}$ -Atemtests abzuleitenden

diagnostischen Aussagen zu erhöhen. Zwei Möglichkeiten der Nutzung des hier beschriebenen Modells für die klinische Diagnostik sollen im folgenden beschrieben werden, nämlich die Berechnung des Anteils des Stoffstroms  $w_A'$ , der den Pool A verläßt und als Kohlendioxid ausgeatmet wird, an dem insgesamt ausgeatmeten Kohlendioxid-Strom, und die Normierung der bei  $^{13}\text{C}$ -Atemtests gewonnenen Meßdaten mittels der aus dem Modell abgeleiteten Größe  $M_A$  dieses Pools.

Für beide Wege ist charakteristisch, daß die diagnostische Aussage nicht wie üblich aus den Meßdaten selbst, sondern aus der Größe von Parametern abgeleitet wird, die aufgrund bestimmter Modellvorstellungen mit Hilfe dieser Meßdaten berechnet werden. Als bereits bekannte Beispiele für ein solches Herangehen bei  $^{13}\text{C}$ -Atemtests verweisen wir auf Arbeiten von Irving CS, Schoeller DA, Nakamura K et al. (1982), Ghooos Y (1996) und Klein PD, Malaty HM, Czinn SJ et al. (1998).

Es liegt nahe, der klinischen Anwendung von  $^{13}\text{C}$ -Atemtests des hier behandelten Typs nicht die  $^{13}\text{C}$ -Häufigkeit in der Atemluft selbst, sondern den daraus abgeleiteten Kohlenstoff-Stoffstrom  $w_A'$  zugrunde zu legen, der den Pool A verläßt und mit der Atemluft ausgeschieden wird.

Für die Berechnung dieses Stoffstroms gehen wir von Gl. 12 aus, substituieren darin  $a_A(0)$  mittels Gl. 14 und erhalten:

$$w_A' = P (M_S + M_A) (a(0) - a_0) / [M_S (a_S - a_0)] \quad (16)$$

Die Menge  $M_S$  und die  $^{13}\text{C}$ -Häufigkeit  $a_S$  des Substrats sowie die natürliche  $^{13}\text{C}$ -Häufigkeit  $a_0$  in Gl. 16 sind bekannt. Der Strom  $P$  des mit der Atemluft ausgeschiedenen Kohlendioxids kann bei Kenntnis von Körpermasse, Körpergröße, Alter und Geschlecht des Probanden mit Hilfe der Gl. 4 und 5 berechnet werden. Die Größe  $a(0)$  läßt sich durch Extrapolation des abfallenden Teils der Kurve in Abb. 3 auf  $t = 0$  ermitteln, während sich die Größe  $M_A$  des Pools A durch Anwendung von Gl. 10 auf den abfallenden Teil dieser Kurve ergibt.

In  $w_A'$  sind ebenso wie in  $a$  zwei Faktoren enthalten, nämlich sowohl die in  $P$  zum Ausdruck kommende normale physische Konstitution als auch der Gesundheitszustand des Probanden. Es liegt nun nahe, den für die Diagnostik ja uninteressanten Einfluß der physischen Konstitution durch Bildung des Quotienten  $Q$  aus  $w_A'$  und  $P$  zu eliminieren und der Diagnostik nicht die  $^{13}\text{C}$ -Häufigkeit  $a$  in der Atemluft, sondern eben diesen Quotienten  $Q$  zugrunde zu legen, der sich durch Umformen der Gl. 16 ergibt zu

$$Q = w_A'/P = (M_S + M_A) (a(0) - a_0) / [M_S (a_S - a_0)] \quad (17)$$

Wir schlagen also vor, anstelle der  $^{13}\text{C}$ -Häufigkeit  $a$  in der Atemluft den Anteil  $Q$  des Stoffstroms, der aus dem Pool A in die Atemluft gelangt, an dem insgesamt ausgeatmeten Kohlendioxid als (von der physischen Konstitution des Probanden einigermaßen unabhängiges) diagnostisches Kriterium zu benutzen.

Im folgenden präsentieren wir eine weitere Methodik, mit deren Hilfe die Einflüsse der physischen Konstitution auf die mit  $^{13}\text{C}$ -Atemtests gewonnenen Meßwerte mehr oder weniger eliminiert werden können. Die Methodik beruht auf einer Normierung der in der Atemluft gemessenen  $^{13}\text{C}$ -Häufigkeiten  $a$  und der zugehörigen Zeiten  $t$ . Ziel dieser Normierung ist es, die Meßwerte in reine („dimensionslose“) Zahlen umzuwandeln, um so  $a$ - $t$ -Diagramme (vgl. Abb. 3) zu gewinnen, die von Proband zu Proband — weitgehend unabhängig von deren physischer Konstitution — kommensurabel sind.

Bei der Normierung der  $^{13}\text{C}$ -Häufigkeiten  $a$  auf der Ordinate des  $a$ - $t$ -Diagramms wird in folgender Weise verfahren: Die gemessenen  $^{13}\text{C}$ -Gehalte  $a$  werden auf den  $^{13}\text{C}$ -Gehalt  $a^*$  eines (nach Masse und  $^{13}\text{C}$ -Gehalt des Kohlenstoffs) homogenen Gemischs aus dem applizierten Substrat und dem Pool A aktiv am Stoffwechsel beteiligter Kohlenstoff-Verbindungen bezogen. Dieser Wert  $a^*$  läßt sich mit Hilfe von Gl. 2 unter Berücksichtigung von  $a_A(0) = a^*$  zu

$$a^* = (M_S a_S + M_A a_0) / (M_S + M_A) \quad (18)$$

berechnen.

Der erste Schritt der Normierung besteht somit darin,  $a$  im  $a$ - $t$ -Diagramm der Abb. 3 durch  $a/a^*$  zu ersetzen, durch den Quotienten aus den nach Applikation des Substrats gemessenen  $^{13}\text{C}$ -Häufigkeiten in der Atemluft und demjenigen  $^{13}\text{C}$ -Gehalt also, den eine homogene Mischung aus dem applizierten Substrat mit der Kohlenstoff-Menge  $M_A$  des Pools A annehmen würde. Anschaulich ausgedrückt ist der dimensionslose Ausdruck  $a/a^*$  ein Vielfaches desjenigen  $^{13}\text{C}$ -Gehalts, den eine solche Mischung hätte.

Die hier vorgeschlagene Normierung der Ordinatenwerte im  $a$ - $t$ -Diagramm ähnelt dem häufig angewandten Prinzip, die Menge des applizierten  $^{13}\text{C}$ -markierten Substrats auf die Körpermasse des Probanden zu beziehen bzw., wie es bei Leodolter A (1997) geschieht, die gemessenen  $\delta$ -Werte entsprechend der verabreichten Substrat-Dosis und der Körpermasse zu normieren. Diese Art der Normierung ist jedoch auf die  $t$ -Achse des  $a$ - $t$ -Diagramms nicht übertragbar. Außerdem wird so nicht zwischen aktiv und träge am Kohlenstoff-Stoffwechsel beteiligten körpereigenen Pools unterschieden.

Die Zeiten  $t$  auf der Abszisse des  $a$ - $t$ -Diagramms (vgl. Abb. 3) werden normiert, indem sie auf die Zeit  $t^*$  bezogen werden, während welcher die im Körper des Probanden enthaltene Menge  $M_A$  rasch austauschbaren organisch gebundenen Kohlenstoffs gerade einmal als  $\text{CO}_2$  mit der Atemluft ausgeschieden wird. Diese Zeit (in Tagen) ergibt sich aus der Menge  $M_A$  in Mol und dem Kohlenstoff-Stoffstrom  $P$  des als  $\text{CO}_2$  ausgeatmeten Kohlenstoffs in Mol pro Tag zu:

$$t^* = M_A [\text{mol}] / P[\text{mol/d}] = (M_A / P) [\text{d}] \quad (19)$$

Der zweite Schritt der Normierung besteht somit darin, die Größe  $t$  im  $a$ - $t$ -Diagramm eines  $^{13}\text{C}$ -Atemtests mit Hilfe von Gl. 19 durch  $t/t^*$  zu ersetzen, durch einen Quotienten aus zwei Zeiten, wiederum durch eine dimensionslose Zahl also. Anschaulich ausgedrückt ist  $t/t^*$  ein Vielfaches derjenigen Zeit, während welcher die Menge  $M_A$  des rasch austauschbaren Kohlenstoffs im Körper des Probanden gerade einmal (in Form von  $\text{CO}_2$ ) ausgeatmet wird.

Im Ergebnis der hier vorgeschlagenen Normierung entstehen aus den  $a$ - $t$ -Diagrammen von  $^{13}\text{C}$ -Atemtests (vgl. Abb. 3)  $a/a^*$ - $t/t^*$ -Diagramme mit dimensionslosen Zahlen auf den Koordinaten. Die Kurven in diesen Diagrammen sind weitgehend unabhängig von der physischen Konstitution der Probanden. Aus solchen Diagrammen abgeleitete diagnostische Aussagen sollten daher aus den bisher üblichen  $a$ - $t$ -Diagrammen abgeleiteten Aussagen hinsichtlich Sensitivität und Spezifität überlegen sein.

#### 4.1.2. $^{13}\text{C}$ -Atemtests mit neuen Substraten

Seit Mitte der achtziger Jahre ist bekannt, daß *Helicobacter pylori*, damals noch *Campylobacter pyloridis* und später *Campylobacter pylori* genannt, eine Gattung gramnegativer mikroaerophiler oder anaerober Bakterien, eine hohe endogene Urease-Aktivität aufweist, d. h. Harnstoff in Ammoniak und Kohlendioxid spaltet. Die Gattung besiedelt den Magen-Darm-Trakt, die Mundhöhle und auch die Geschlechtsorgane und verursacht Magenschleimhautentzündungen, Magen- und Zwölffingerdarm-Geschwüre, Verdauungs- und Magenbeschwerden und kann, das steht heute fest, auch Magenkrebs auslösen (Hazell SL und Lee H 1986). Man nimmt heute an, daß die meisten Erkrankungen dieser Art durch *Helicobacter pylori*-Infektionen ausgelöst werden. Nur wenige Jahre später stellten Graham DY, Evans D, Alpert L et al. (1987) — die hohe Urease-, also Harnstoff in Ammoniak und Kohlendioxid spaltende Aktivität dieser Mikroorganismen ausnutzend — ihren  $^{13}\text{C}$ -Harnstoff-Atemtest zum Nachweis der *Helicobacter pylori*-Infektion vor, den heute mit weitem Abstand am häufigsten angewandten  $^{13}\text{C}$ -Atemtest. Aktuelle Übersichten der mikrobiologischen und klinischen Aspekte der *Helicobacter pylori*-Infektion finden sich bei Hinsen U (1998), Leodolter A (1997), bei Klein PD, Logan RP, Amarri S et al. (1998) sowie bei Graham KS und Graham DY (1998).

Wie Heine WE, Berthold HK und Klein PD (1996) gezeigt haben, sind  $^{13}\text{C}$ -markierte Glycosylureide spezifische Indikatoren mikrobieller Tätigkeit im Kolon. Nach oraler Gabe von Laktose- oder Cellobiose- $^{13}\text{C}$ -ureid trat bakterielle Spaltung der N-Glycosylbindung und anschließende Hydrolyse des Harnstoffs ein.  $^{13}\text{CO}_2$  in der Atemluft erschien nach 5 bis 6 Stunden, erreichte nach 8 bis 10 Stunden ein Maximum und war nach 18 bis 24 Stunden abgeklungen. Es zeigte sich, daß eine Stunde vor dem Substrat verabreichtes Metoclopramid (10 mg) den Beginn der Ausscheidung von  $^{13}\text{CO}_2$  um etwa eine Stunde vorverlegt, während Loperamid (16 mg) der Beginn der  $^{13}\text{CO}_2$ -Ausscheidung verlangsamt, deren Maximum verbreiterte und um etwa vier Stunden verzögerte. Der  $^{13}\text{C}$ -Glycosylureid-Atemtest sollte somit geeignet sein, Störungen der gastrointestinalen Motilität zu diagnostizieren und die Entwicklung von Medikamenten zur Therapie solcher Störungen zu erleichtern.

Wenn der Metabolismus zweier Substrate gleichzeitig untersucht werden soll, können kombinierte  $^{14}\text{C}$ - und  $^{13}\text{C}$ -Atemtest angewandt werden. So untersuchten Maes BD, Ghooos YF, Geypens BJ et al. (1995) den Einfluß von Octreotid, einem synthetischen Peptid aus acht Aminosäure-Einheiten, auf die Magenentleerung sowohl fester als auch flüssiger Nahrung mit Hilfe eines  $^{14}\text{C}$ -Octansäure- $^{13}\text{C}$ -Glycin-Atemtests. Das subkutan zu injizierende Peptid ist ein Therapeutikum mit Langzeitwirkung bei Motilitätsstörungen. Die Autoren zeigten an jungen, gesunden Freiwilligen, daß Octreotid die Magenentleerung bei fester wie bei flüssiger Nahrung verlangsamt. Der kombinierte Test ist für den Nachweis dieses Effekts besonders geeignet, weil Octreotid Resorption und Abbau von Octansäure ebenso wie von Glycin unbeeinflusst läßt. Ein weiteres Beispiel für einen kombinierten  $^{14}\text{C}$ - und  $^{13}\text{C}$ -Atemtest gaben Evenepoel P, Claus D, Geypens P et al. (1998), welche mit Hilfe eines  $^{14}\text{C}$ -Oktansäure /  $^{13}\text{C}$ -Eiklar-Atemtests die Eiweiß-Resorption unter dem Einfluß eines Protonenpumpen-Inhibitors studierten und zeigten, daß eine Verringerung der Magensäure-Konzentration die Eiweiß-Resorption im Magen mindert.  $^{13}\text{C}$ -markiertes Ei bildet die Basis eines  $^{13}\text{C}$ -Atemtests zur Bestimmung der wahren Verdaulichkeit von Ei-Protein im Ileum (Evenepoel P, Geypens P, Luypaerts A et al. 1998).

Ishii T, Takatori K, Iida K et al. (1998) untersuchten, an welcher Stelle des Phenylalanin-Moleküls das  $^{13}\text{C}$  eingeführt werden muß, um zu einem optimalen  $^{13}\text{C}$ -Atemtest zur Untersuchung der Leberfunktion zu gelangen. Dabei erwies sich L-[1- $^{13}\text{C}$ ]Phenylalanin als am besten geeignet und als dem  $^{13}\text{C}$ -Phenacetin als Substrat überlegen.

Angeblich kann durch Alkoholmißbrauch erworbene Fettleber mit Hilfe eines neuen Atemtests, des  $^{13}\text{C}$ -Ketoisocapronsäure-Atemtests, von nichtalkoholischer Fettleber unterschieden werden. Es zeigte sich, daß bei alkoholischer Fettleber und nur bei dieser die Geschwindigkeit der Decarboxylierung dieser Ketosäure verringert ist (Mion F, Rousseau M, Brazier J-L et al. 1995).

#### 4.1.3. Neue Anwendungsmöglichkeiten von $^{13}\text{C}$ -Atemtests

Seit der Beschreibung der *Helicobacter pylori*-Infektion durch Marshall BJ und Warren JR (1983) ist eine Reihe von Tests für deren Diagnose ausgearbeitet worden, invasive, also mit Gastroskopie und Biopsie verbundene, ebenso wie nichtinvasive. Dehesa Violante M (1993) hat diese Tests kompiliert und miteinander verglichen. Ihre Ergebnisse sind in Tab. 4 zusammengefaßt.

<i>Test</i>	<i>Sensitivität</i>	<i>falsch negativ</i>	<i>Spezifität</i>	<i>falsch positiv</i>
<u>Invasive Tests</u>				
Kultur	83 – 90	10 – 17	93	7
Histologie	95	5	91 – 97	3 – 9
Urease-Schnelltest	92	8	85 – 90	10 – 15
Urease-24 h-Test	67 – 77	23 – 33	93	7
<u>Nicht-Invasive Tests</u>				
$^{13}\text{C}$ -Harnstoff-Atemtest	96 – 99	1 – 4	96 – 98	2 – 4
$^{14}\text{C}$ -Harnstoff-Atemtest	96	4	83 – 98	2 – 17
Serologie	96	4	88 – 92	8 – 12

**Tabelle 4**

Vergleich verschiedener Methoden zur Diagnose der *Helicobacter pylori*-Infektion hinsichtlich Sensitivität und Spezifität (nach Dehesa Violante M 1993). Alle Angaben in %.

Tab. 4 demonstriert klar die Überlegenheit des  $^{13}\text{C}$ -Harnstoff-Atemtests. Angesichts der geringfügigen Belastung des Patienten wird der Test für die Therapiekontrolle besonders empfohlen (Dehesa Violante M 1993).

Klatt S, Taut C, Mayer D et al. (1997) bewiesen die Überlegenheit des  $^{13}\text{C}$ -Methazetin-Atemtests bei der quantitativen Bewertung von Lebererkrankungen im Vergleich mit der Child-Pugh-Bewertung und anderen quantitativen Leberfunktionstests wie dem MEGX-Test und der Indocyanin-Clearance. 31 Patienten mit histologisch gesicherter Leberzirrhose unterschiedlicher Ursache und Schwere, 10 Patienten mit chronischer Virus-Hepatitis und 10 gesunde Freiwillige erhielten 2 mg  $^{13}\text{C}$ -Methazetin pro kg Körpermasse per os. Die DOB-Werte nach 20 Minuten waren eindeutig besser mit der Child-Pugh-Bewertung korreliert ( $r = 0,67$ ) als die Ergebnisse des MEGX-Tests ( $r = 0,39$ ) und der Indocyaningrün-Clearance ( $r = 0,43$ ). Bei einem cut off-Wert von 25 ‰ nach 20 Minuten lagen Selektivität und Spezifität der Differenzierung zwischen zirrhotischen und nicht-zirrhotischen Patienten bei 93,5 bzw. 95 %.

Opekun AR Jr, Klein PD und Graham DY (1995) konnten zeigen, daß der  $^{13}\text{C}$ -Aminopyrin-Atemtest Veränderungen des Leber-Stoffwechsels nachzuweisen gestattet, wie sie durch in niedrigen Dosen verabreichte Verhütungsmittel hervorgerufen werden.

Nach Ghoos YF, Maes BD, Geypens BJ et al. (1993) ist der  $^{13}\text{C}$ -Octansäure-Atemtest nicht nur ein Mittel zur Optimierung der klinischen Ernährung, insbesondere zur Differenzierung des oxidativen Abbaus mittel- und langkettiger Triglyceride (Sauer PJJ, Lafeber HN und Sul-

kers EJ 1988), sondern auch zur Messung der Geschwindigkeit der Magenentleerung fester Nahrung. Nach Pfaffenbach B, Wegener M, Adamek RJ et al. (1995) reichen 30-minütige Meßintervalle allerdings nicht aus, um eine befriedigende Reproduzierbarkeit bei Gesunden und eine gute Korrelation zur Magenentleerungs-Szintigraphie bei Diabetikern festzustellen.

Die Geschwindigkeit der Magenentleerung bei Flüssigkeiten in halbfesten ebenso wie in flüssig-festen Mahlzeiten kann mittels des  $^{13}\text{C}$ -Acetat-Atemtests zuverlässig gemessen werden (Braden B, Adams S, Duan LP et al. 1995; Pfaffenbach B, Schaffstein J, Adamek RJ et al. 1996). Angesichts der Tatsache, daß hier in der Regel radioaktive Tracer wie  $^{51}\text{Cr}$  und  $^{199\text{m}}\text{Tc}$  üblich sind (Griffith GH, Owen GM, Kirkman S et al. 1966; Wegener M, Schaffstein J und Börsch G 1988), kommt diesen Ergebnissen besondere Bedeutung zu.

Lifschitz CA, Boutton TW, Carazza TF et al. (1988) untersuchten die Glucose-Resorption und -Verwertung bei Kindern mit Hilfe des  $^{13}\text{C}$ -Glucose-Atemtests. Fünf Kinder mit angeborener Glucose-Galactose-Malabsorption und fünf mit schwerer villöser Dünndarm-Atrophie und chronischer Diarrhoe wurden miteinander und mit drei gesunden und vier Kindern mit starker Unterernährung ohne Diarrhoe verglichen. Die Atemtestkurven der Kinder mit Glucose-Galactose-Malabsorption und derjenigen mit chronischer Diarrhoe unterschieden sich signifikant von denen der anderen beiden Gruppen. Somit kann der  $^{13}\text{C}$ -Glucose-Atemtest zumindest zur Diagnose schwerer Glucose-Malabsorption herangezogen werden.

Tanis AA, van den Berg JW, Kroneman R et al. (1998) benutzten einen  $^{13}\text{C}$ -Atemtest mit auf natürlichem Wege an  $^{13}\text{C}$  angereicherten Kohlenhydraten als Substrat zur Erforschung des Leberglykogen-Stoffwechsels.

Konventionelle Methoden der Diagnose einer bakteriellen Überbesiedlung des Dünndarms sind entweder invasiv oder sie erfordern aufwendige Labortechniken; andere wiederum sind nicht ausreichend empfindlich und spezifisch. Orientierende Untersuchungen von Lim, Wagner DA, Tosces PP et al. (1993) deuten darauf hin, daß der  $^{13}\text{C}$ -Xylose-Atemtest eine attraktive Alternative sein dürfte. Dellert SF, Nowicki MJ, Farrell MK et al. (1997) konnten zeigen, daß dieser Test auch bei Kindern angewandt werden kann, um eine bakterielle Überbesiedlung des Dünndarms zu diagnostizieren.

In Zukunft werden  $^{13}\text{C}$ -Atemtests wahrscheinlich eine zunehmende Rolle spielen bei der epidemiologischen Erforschung des Einflusses anthropogener Luftschadstoffe auf den menschlichen Organismus. Aus naheliegenden Gründen werden solchen Untersuchungen Tierexperimente vorangehen, wo sich  $^{14}\text{C}$ -Atemtests noch lange neben den  $^{13}\text{C}$ -Atemtests behaupten werden, nicht nur, weil hier die Strahlenbelastung kaum eine Rolle spielt, sondern auch wegen der meist nur kleinen verfügbaren Atemgasmengen (Martin JG und Redgrave TG 1998). Als beispielhaft für diesen Trend können Untersuchungen von Krüger N, Neubert B, Helge H et al. (1990) bzw. Krüger N, Helge H und Norbert D (1991) über den Einfluß von polychlorierten Diphenyldioxinen (PCDD) und -furanen (PCDF) in der Muttermilch auf den Stoffwechsel von Säuglingen gelten. Soweit es sich, wie in diesem Falle, um lipophile Xenobiotika handelt, muß ja mit einer Anreicherung in der Muttermilch gerechnet werden.

#### 4.1.4. Modifizierte <sup>13</sup>C–Atemtests

Viele Untersuchungen über <sup>13</sup>C–Atemtests sind der weiteren Ausgestaltung solcher Tests, ihrer Vereinfachung, ihrer amtlichen Validierung und der Erhöhung ihrer Empfindlichkeit und Spezifität gewidmet. In besonderem Maße gilt dies für den <sup>13</sup>C–Harnstoff–Atemtest zur Diagnose der *Helicobacter pylori*–Infektion, der — obwohl erst vor nicht viel mehr als einem Jahrzehnt eingeführt — eine enorme Verbreitung gefunden hat.

Für diesen Test wurde von Braden B, Duan LP, Caspary WF et al. (1994) vorgeschlagen, unmittelbar vor Einnahme von 75 mg <sup>13</sup>C–Harnstoff in 200 ml 0,1n wäßriger Zitronensäure–Lösung eine erste Atemgasprobe und nach 20 oder 30 Minuten (ohne zwischenzeitliche Nahrungsaufnahme) eine zweite Atemgasprobe zu nehmen.

Was die Vereinfachung des <sup>13</sup>C–Harnstoff–Atemtests betrifft, so konnten schon Lotterer E, Ramaker J, Lüdtker FE et al. (1991) zeigen, daß die <sup>13</sup>C–Analyse einer einzigen Atemgasprobe nach Einnahme des Substrats ausreicht, um den *Helicobacter pylori*–Status eines Probanden zu erfassen. Darüber hinaus kamen Malaty HM, el Zimaity HM, Ganta RM et al. (1996) zu dem Schluß, daß der Verzicht auf Verabreichung eines Mahls zusammen mit dem <sup>13</sup>C–Harnstoff und eine Verkürzung der Zeit zwischen der Einnahme des Substrats und der Atemgas–Probenahme auf 20 Minuten keine Einbuße an Spezifität und Selektivität (je etwa 95 %) des <sup>13</sup>C–Harnstoff–Atemtests mit sich bringt. Nach Kato M, Asaka M, Kudo T et al. (1998) läßt sich diese Zeit sogar auf 10 Minuten verkürzen, wenn 100 mg <sup>13</sup>C–Harnstoff appliziert werden. Eine Variation des zusammen mit dem <sup>13</sup>C–Harnstoff aufgenommenen Mahls und die gleichzeitige Gabe von  $\beta$ –(3,4–Dihydroxyphenyl)–ethylamin (Dopamin) als die Magenentleerung verlangsamendes Mittel beeinflußt die Ergebnisse von <sup>13</sup>C–Harnstoff–Atemtests nicht signifikant (Casellas F, Lopez J, Borruel N et al. 1999).

Hamlet AK, Erlandsson KIM, Olbe L et al. (1995) zeigten, daß die Benutzung gekapselter <sup>14</sup>C–Harnstoff–Präparate anstelle von gelöstem <sup>14</sup>C–Harnstoff zu einer Erhöhung der Zuverlässigkeit von <sup>14</sup>C–Harnstoff–Atemtests führt, wahrscheinlich weil die Gefahr einer Wechselwirkung mit Urease ausscheidenden Bakterien in der Mund- und Rachenhöhle vermindert wird. Wenn das zutrifft, ist das Ergebnis zweifellos auch auf den <sup>13</sup>C–Harnstoff–Atemtest übertragbar. Unter Benutzung von in Gelatine gekapseltem <sup>13</sup>C–Harnstoff konnten Bielanski W und Konturek SJ (1996) zeigen, daß in solcher Weise modifizierte <sup>13</sup>C–Harnstoff–Atemtests eine beträchtliche Senkung der einzusetzenden Substrat–Menge ermöglichen.

Klein PD, Malaty HM, Martin RF et al. (1996) haben den <sup>13</sup>C–Harnstoff–Atemtest zum Nachweis von *Helicobacter pylori*–Infektionen an einer großen Zahl infizierter und nicht infizierter Probanden, insbesondere an Patienten mit Zwölffingerdarm–Geschwüren vor und nach einer Behandlung mit antibakteriellen Medikamenten, untersucht und dabei Tracermenge (125 und 250 mg <sup>13</sup>C–Harnstoff) und Zeitspanne zwischen Einnahme des Substrats und Probenahme (30 und 40 Minuten) variiert. Die Ergebnisse wurden verglichen mit denen von histologischen Untersuchungen an Biopsien der Magenschleimhaut. Der <sup>13</sup>C–Harnstoff–Atemtest erwies sich dabei als sehr zuverlässig bei Probanden sowohl vor als auch nach einer Therapie, vorausgesetzt, daß die Therapiekontrolle frühestens vier Wochen nach dem Ende der medikamentösen Behandlung ausgeführt wird (Börsch GM und Graham DY 1991; Graham DY und Ganta RM 1994; Graham DY 1994). Die Untersuchungen bestätigten, daß eine Dosierung von 125 mg <sup>13</sup>C–Harnstoff und die Entnahme der Atemgasprobe 30 Minuten nach Einnahme des Substrats einen zuverlässigen nichtinvasiven Nachweis von *Helicobacter pylori*–Infektionen gewährleisten.

Bei  $^{13}\text{C}$ -Harnstoff-Atemtests an Kindern mit ihrer höheren endogenen Kohlendioxid-Ausscheidung muß offenbar ein niedrigerer cut off-Wert (3,5 statt 5 ‰ bei 2 mg pro kg Körpermasse und maximal 100 mg  $^{13}\text{C}$ -Harnstoff) angesetzt werden (Cadranel S, Corvaglia L, Botems P et al. 1998).

Durch einen Vergleich der Kinetik der  $^{13}\text{CO}_2$ -Ausscheidung mit der Atemluft nach der Einnahme von entweder  $^{13}\text{C}$ -Harnstoff oder  $\text{NaH}^{13}\text{CO}_3$  zusammen mit 200 ml 0,1 n Zitronensäure-Lösung konnten Eggers RH, Kulp A, Lüdtke FE et al. (1990) zeigen, daß Probanden mit *Helicobacter pylori*-Infektion 15 bis 60 % des verabreichten  $^{13}\text{C}$ -Harnstoffs hydrolysieren und das gebildete Kohlendioxid mit der Atemluft ausscheiden.

In 200 ml 0,1 n Zitronensäure-Lösung mit 25 mg Saccharin als Süßungsmittel gelöster  $^{13}\text{C}$ -Harnstoff erwies sich im Vergleich mit halbflüssigen Testmahlzeiten (250 ml Meritene®, Wander Pharma bzw. Ensure® (Abbott) plus 50 ml Calogen® (SHS Pharma)) als hinsichtlich Tracermenge und Zeitaufwand überlegen (Dominguez-Munoz JE, Leodolter A, Sauerbruch T et al. 1997).

Nach Untersuchungen von Oksanen A, Bergström M, Sjöstedt A et al. (1997) erreicht man beim Nachweis von *Helicobacter pylori*-Infektionen mit 100 mg in Leitungswasser gelöstem  $^{13}\text{C}$ -Harnstoff und Atemgas-Probenahme 30 Minuten nach Einnahme des Substrats Empfindlichkeiten und Spezifitäten von 92 bzw. 95 %, wenn man einen cut off-Wert von 3,5 ‰ DOB wählt. Ebenso wie die vorher erwähnten Ergebnisse spricht auch das dafür, daß es spezieller Testmahlzeiten nicht bedarf, um falsch negative Ergebnisse durch zu rasche Magenentleerung zu vermeiden.

Körperhaltung und Mundspülung nach Einnahme des Substrats beeinflussen die  $^{13}\text{C}$ -Ausscheidung mit der Atemluft im Bereich der ersten fünf bis zehn Minuten nach der Einnahme des  $^{13}\text{C}$ -Harnstoffs in signifikantem Maße. Wahrscheinlich erhält man die verlässlichsten Ergebnisse, wenn der Proband im nüchternen Zustande ist und bleibt und nach Aufnahme des Substrats bis zur Beprobung der Atemluft sitzend verharrt (Miwa H, Murai T, Ohkura R et al. 1997).

In jüngster Zeit beginnen sich  $^{13}\text{C}$ -Atemtests zu etablieren als Mittel nicht nur der qualitativen, sondern auch der halb-quantitativen Diagnostik. Es ist nicht überraschend, daß sich diese Tendenz zuerst bei dem am häufigsten benutzten und deshalb am höchsten entwickelten  $^{13}\text{C}$ -Atemtest, nämlich dem  $^{13}\text{C}$ -Harnstoff-Atemtest, äußert (Ellenrieder V, Glasbrenner B, Stoffels C et al. 1997; Perry F, Clemente R, Pastore M et al. 1998).

Bezüglich weiterer Untersuchungen zur Vereinfachung und Optimierung des  $^{13}\text{C}$ -Harnstoff-Atemtests verweisen wir auf Arbeiten von Logan RPH, Polsen RJ, Misiewicz JJ et al. (1991), Logan RPH, Dill S, Bauer FE et al. (1991), Klein PD und Graham DY (1993), Braden B, Duan LP, Caspary WF et al. (1994), Eggers RH, Kulp A, Tegeler R et al. (1990) und Lotterer E, Ramaker J, Lüdtke FE et al. (1991).

Eine umfassende Darstellung des  $^{13}\text{C}$ -Harnstoff-Atemtests zur Diagnostik von *Helicobacter pylori*-Infektionen hat Leodolter (1997) gegeben. Über die medizinischen Aspekte der mit *Helicobacter pylori*-Infektionen verbundenen Erkrankungen des Magen-Darm-Trakts informiert die Monographie von Graham KS und Graham DY (1998). Eine ausgezeichnete Übersicht über die Diagnostik von *Helicobacter pylori*-Infektionen einschließlich der Profile vieler einschlägiger Firmen gibt Bonney (1997).

Choi M-G, Camillery M, Burton DD et al. (1998) zeigten, daß der mit keinerlei Strahlenbelastung des Probanden verbundene  $^{13}\text{C}$ -Octansäure-Atemtest bei elfmaliger Atemgas-Probenahme in einer Zeitspanne von sechs statt, wie bisher, vier Stunden nach der Einnahme des Substrats Magenentleerungszeiten liefert, deren Reproduzierbarkeiten denen der Szintigraphie nicht nachstehen.

Mitte der 90-er Jahre beginnend wurde die massenspektrometrische Analyse von  $^{13}\text{C}$ -Atemtest-Proben ergänzt durch die nichtdispersive Infrarotspektrometrie (Koletzko S, Haisch M, Seeboth E et al. 1995; Taniguchi Y, Kimura K, Sato K et al. 1995; Hildebrand P und Beglinger C 1997; Fischer Analysen Instrumente GmbH 1997; Wetzell K und Gerstenberger H 1978). Es zeigte sich, daß diese Geräte hinreichend verläßlich und reproduzierbar sind und die Massenspektrometrie hinsichtlich ihres niedrigen Anschaffungspreises und ihres geringen Bedienungsaufwands übertreffen.

#### 4.2. Neuere Ergebnisse der Anwendung von $^{13}\text{C}$ -Atemtests

Wie die meisten Methoden der klinischen Diagnostik konkurrieren  $^{13}\text{C}$ -Atemtests mit alternativen Methoden der medizinischen Diagnostik. Hinzu kommt, daß bei vielen klinischen Untersuchungen neben dem jeweiligen Atemtest zur gegenseitigen Kontrolle auch andere diagnostische Methoden zur Anwendung kommen. Es ist deshalb nicht immer ohne weiteres möglich, eine medizinische Erkenntnis einer bestimmten diagnostischen Methode eindeutig zuzuordnen.

Die Auswahl der in diesem Kapitel zu behandelnden wichtigen Erkenntnisse der klinischen Forschung soll sich aus diesem Grunde nicht in erster Linie danach richten, ob  $^{13}\text{C}$ -Atemtests überhaupt an ihrem Zustandekommen beteiligt waren, sondern danach, ob die Tatsache, daß solche Tests mit keinerlei Strahlen-, toxischer oder traumatischer Belastung des Probanden verbunden sind, eine entscheidende Rolle gespielt hat oder spielt.

Es ist deshalb kein Wunder, daß dabei Erkenntnisse aus epidemiologischen und präventiven Untersuchungen, aus anderen Untersuchungen, in die viele Gesunde oder vermutlich Gesunde einbezogen werden müssen, und aus der Kontrolle therapeutischer Maßnahmen im Vordergrund stehen.

1996 hat die European Helicobacter Pylori Study Group einen Consensus Report über die Behandlung von Helicobacter pylori-Infektionen veröffentlicht, in dem die Diskussionen auf einem Meeting in Maastricht mit 63 Teilnehmern aus 19 europäischen Ländern und Beobachtern aus Canada, Japan und den USA zusammengefaßt sind.

Entsprechend diesem sogenannten Maastricht Consensus Report 1996 (European Helicobacter Pylori Study Group 1997) sind zumindest (akute und chronische) Magen- und Zwölffingerdarmgeschwüre, Lymphome mit lymphoidem Magenschleimhautgewebe (MALT), Magenschleimhautentzündungen mit schweren Anomalien und Zustände nach Resektion maligner Magentumoren in frühem Stadium starke Indikationen einer Helicobacter pylori-Therapie. Auch bei funktionellen Verdauungsstörungen, bei häufigem Auftreten von Magenkrebs in der Familie, bei Langzeitbehandlung mit Protonenpumpen-Inhibitoren, bei gastro-oesophagen Refluxbeschwerden, geplanter oder tatsächlicher Therapie mit nichtsteroidalen entzündungshemmenden Arzneimitteln ebenso wie nach Magenoperationen gegen Magen- oder Zwölffingerdarmgeschwüre empfiehlt die European Helicobacter Pylori Study Group (EHPSG) eine Helicobacter pylori-Therapie.

Was das Regime solcher therapeutischer Maßnahmen betrifft, werden 7-tägige Behandlungen empfohlen mit

- Metronidazol (zweimal 400 mg pro Tag) / Timidazol (zweimal 500 mg pro Tag) plus Clarythromycin (zweimal 250 mg pro Tag) oder
  - Amoxyllin (zweimal 1000 mg pro Tag) plus Clarythromycin (zweimal 500 mg pro Tag), ratsam, wenn Metronidazol–Resistenz wahrscheinlich ist, oder
  - Amoxyllin (dreimal 500 mg pro Tag) plus Metronidazol (dreimal 400 mg pro Tag), ratsam, wenn Clarythromycin–Resistenz wahrscheinlich ist,
- jeweils in Kombination mit einem Protonenpumpen–Inhibitor in Standard–Dosierung (20 mg Omeprazol, 30 mg Lansoprazol oder 40 mg Pantoprazol, jeweils 2x pro Tag).

Die Food and Drug Administration der USA (FDA) hat folgende Therapien gegen *Helicobacter pylori*–Infektionen zertifiziert:

- Omeprazol plus Clarythromycin
  - Ranitidin–Wismutzitrat plus Clarythromycin
  - Wismutsalsalicylat plus Metronidazol plus Tetracyclinhydrochlorid
  - Lansoprazol plus Amoxyllin plus Clarythromycin
  - Lansoprazol plus Amoxyllin,
- und zwar jeweils 14 Tage lang (Graham KS und Graham DY 1998).

Eine duale Therapie der *Helicobacter pylori*–Infektion mit Omeprazol plus Clarythromycin erwies sich als gut verträglich und wirksam gegen Metronidazol–resistente *Helicobacter pylori*–Stämme und könnte deshalb eine Alternative zu der üblichen Tripel–Therapie sein (Logan RPH, Gummett PH, Schaufelberger HD et al. 1994; Labenz J, Gyenes E, Rhul GH et al. 1991). Dieses Ergebnis wird gestützt durch Untersuchungen von Lind T, Megraud F, Unge P et al. (1999), wonach der Zusatz von Omeprazol zu einer sehr weitgehenden Eradikation führt, die Gefahr einer primären Resistenz und möglicherweise auch das Risiko einer sekundären Resistenz mindert. Adamek RH und Bethke TD (1998) bewiesen, daß eine einwöchige Tripeltherapie mit Pantoprazol, Clarithromycin und Metronidazol einer zweiwöchigen Doppeltherapie mit Pantoprazol und Clarithromycin überlegen ist. Ellenrieder V, Fensterer H, Waurick M et al. (1998) zeigten, daß eine Erniedrigung der Clarythromycin–Dosis um den Faktor zwei im Rahmen einer Tripeltherapie mit Clarythromycin, Pantoprazol und Metronidazol keine Beeinträchtigung der therapeutischen Wirksamkeit nach sich zieht. Damit wird eine Erhöhung der Verträglichkeit und eine Senkung der Kosten dieser Therapie möglich.

Wie Rothenbacher D, Bode G, Adler G et al. (1997) durch Befragung und Untersuchung des *Helicobacter pylori*–Status mit dem <sup>13</sup>C–Harnstoff–Atemtest an 500 erwachsenen Patienten in einer in der Nähe der süddeutschen Großstadt Ulm gelegenen Region zeigen konnten, hat der frühere Gebrauch von Antibiotika offenbar keinen Einfluß auf die Anfälligkeit für eine *Helicobacter pylori*–Infektion. Auch besteht offensichtlich keine Korrelation zwischen einer *Helicobacter pylori*–Infektion von Kindern im Vorschulalter und Haustieren in den Haushalten, in denen die Kinder aufwachsen (Bode G, Rothenbacher D, Brenner H et al. 1998).

Untersuchungen an über 300 italienischen Kindern mit Hilfe des <sup>13</sup>C–Harnstoff–Atemtests führten Perri F, Pastore M, Clemente R et al. (1998a) zu der Hypothese, daß die *Helicobacter pylori*–Infektion — zumindest im Kindesalter — eine fluktuierende Erkrankung mit spontanen Eradikationen und möglichen Rückfällen ist.

Rothenbacher D, Bode G, Berg G et al. (1999) fanden anhand von Untersuchungen in dieser Region Hinweise darauf, daß *Helicobacter pylori* von den Eltern auf ihre Kinder übertragen wird. Untersuchungen in einem Dorf in Linq County, China, deren Bewohner einem hohen Magenkrebs–Risiko ausgesetzt sind, führten zu dem gleichen Ergebnis (Ma JL, Jou WC, Gail MH et al. 1998).

Untersuchungen von Brenner H, Rothenbacher D, Bode, G et al. (1999) stützen die Hypothese, daß auch die Übertragung des *Helicobacter pylori* von Ehegatte zu Ehegatte eine große Rolle spielt.

Untersuchungen an fast 500 symptomlosen, im Gebiet der Großstadt Houston, Texas, USA, wohnenden Freiwilligen unter Benutzung eines Enzymimmunoassays auf Anti-*Helicobacter pylori*-Immunglobulin G (ELISA) und des <sup>13</sup>C-Harnstoff-Atemtests führten zu wichtigen epidemiologischen Erkenntnissen über die Infektion mit *Helicobacter pylori* (Graham DY, Malaty HM, Evans DG et al. 1991). 52 % der Probanden waren infiziert, wobei der Anteil der Infizierten mit zunehmendem Alter (um 1 % pro Lebensjahr) anstieg. Der Anteil der infizierten Schwarzen war mit 70 % höher als derjenige der befallenen Weißen (34 %), wobei dieser Unterschied auch bestehen blieb, wenn die Ergebnisse in Bezug auf die Einflüsse von Alter, Geschlecht, Bildungsniveau, Einkommen, Tabak- und Alkoholgenuß korrigiert wurden. Signifikante negative Korrelationen zeigten sich zwischen den bezüglich des Alters der Probanden korrigierten Infektionsraten und der Höhe des Einkommens auf der einen Seite und dem Bildungsniveau andererseits. Kein Zusammenhang zeigte sich mit dem Tabak- und Alkoholgenuß sowie mit der Einnahme entzündungshemmender Mittel. Haustierhalter waren seltener infiziert, aber dies war positiv korreliert mit einem höheren sozialökonomischen Status. Die Ergebnisse stehen im Einklang mit der Hypothese, daß die fäkal-orale Übertragung des Erregers eine große Rolle spielt.

Unter Anwendung des <sup>13</sup>C-Harnstoff-Atemtests erkannten Rothenbacher D, Bode G, Berg G et al. (1998) eine starke Streuung der Verbreitung der *Helicobacter pylori*-Infektion bei Kindern unterschiedlicher Nationalität, die in ein und derselben Region leben, wahrscheinlich in Abhängigkeit von deren Lebensbedingungen in der frühen Kindheit.

Bei Untersuchungen an über 400 Personen in Süddeutschland fanden Brenner H, Rothenbacher D, Bode G et al. (1999a) eine negative Korrelation zwischen Alkoholgenuß und akuter Infektion mit *Helicobacter pylori*.

Es gibt eine zunehmende Zahl von Hinweisen darauf, daß ein Zusammenhang zwischen *Helicobacter pylori*-Infektionen und Magenkrebs besteht (American Joint Committee on Cancer 1993; Blaser MJ, Kobayashi K, Cover TI et al. 1993; Breuer T, Sudhop T, Hoch J et al. 1996; Correa P 1991; Eurogast Study Group 1993; Forman D 1995; Hansson LE, Engstrand L, Nyren O et al. 1993; Hanson LE, Nyren O, Hsing AW et al. 1996; Kikuchi S, Wada O, Nakajima T et al. 1995; Nomura A, Stemmermann GN, Chiou PH et al. 1991; Nomura A und Stemmermann GN 1993; Parsonnet J, Friedman G, Vandersteen DP et al. 1991; Sipponen P 1994; Sipponen P, Kosunen TU, Valle S et al. 1992; Sipponen P, Riihelä M, Hyvarinen H et al. 1994; Ma JL, Jou WC, Gail MH et al. 1998).

Wenn Magenkrebs auch als multifaktoriell gilt, so hat die International Agency for Cancer Research doch einen Zusammenhang zwischen *Helicobacter pylori*-Infektionen und Magenkrebs erkannt und 1994 *Helicobacter pylori* als ein krebserzeugendes Agens der Gruppe I klassifiziert.

Einige Ergebnisse von <sup>13</sup>C-Atemtest-Untersuchungen weisen darauf hin, daß *Helicobacter pylori*-Infektionen wahrscheinlich auch mit anderen Erkrankungen als solchen des Magen-Darm-Trakts korreliert sind. So gibt es Anzeichen dafür, daß eine chronische Infektion mit *Helicobacter pylori*, nicht selten in der Kindheit erworben, bei Erwachsenen ein höheres Risiko zur Folge hat, Erkrankungen der Herzkranzgefäße zu erleiden (Patel P, Mendall MA, Carrington D et al. 1995). Möglicherweise ist die Tatsache, daß Armut im Kindesalter mit Anfälligkeit für Erkrankungen der Herzkranzgefäße im Erwachsenenalter einhergeht, auf He-

licobacter pylori–Infektionen zurückzuführen (Mendall M, Goggin PM, Molineaux N et al. 1994). Erst vor wenigen Jahren wiesen Mendall MA, Patel B, Ballam B et al. (1996) auf einen Zusammenhang zwischen der Konzentration C–reaktiver Proteine, empfindliche Marker für systemische Entzündungen, und Herzkranzgefäß–Erkrankungen hin und äußerten die Vermutung, daß die Reaktion des menschlichen Körpers auf Entzündungen einen großen Einfluß auf das Fortschreiten der Arteriosklerose haben könnte.

Es gibt auch Hinweise auf einen Zusammenhang zwischen Helicobacter pylori–Infektionen und Migräne. Die Eradikation des Erregers führte bei der Mehrzahl der untersuchten Patientinnen zu einer verringerten Häufigkeit der Migräne–Anfälle (Gasbarrini A, De–Luca A, Fiore G et al. 1998).

Abweichend von einigen Ergebnissen früherer Untersuchungen kamen Lionetti P, Amarri S, Silenzi F et al. (1999) zu dem Ergebnis, daß die Helicobacter pylori–Infektion bei perinatal HIV–1–infizierten Kindern ebenso häufig ist wie bei nicht infizierten Kindern gleichen Alters.

Mit Hilfe des  $^{13}\text{C}$ –Triooctanoin–Atemtests konnte gezeigt werden, daß die Fettresorption durch Pankreasduodenektomie bzw. durch Resektion des Kopfs der Bauchspeicheldrüse weniger stark beeinträchtigt wird als durch Resektion von Bauchspeicheldrüse und Magen (Shuishi Miyakawa MD, Makoto Hayakawa MD, Abihiko Horiguchi MD et al. 1996).

Der gleiche  $^{13}\text{C}$ –Atemtests diente dem Nachweis der Wirksamkeit eines neuen Medikaments zur Aktivierung der Magenperistaltik anhand von 30 gesunden Probanden. Die Wirkung des vom Erythromycin abgeleiteten Mittels EM 574 auf lag–Phase und Halbwertszeit der Magenentleerung erwies sich als dosisabhängig im Bereich bis zu 20 mg bei minimalen Nebenwirkungen (Choi M–G, Camilleri M, Burton DD et al. 1998a).

Mit Hilfe einer Kombination des  $^{13}\text{C}$ –Acetat–Atemtests mit dem  $^{13}\text{C}$ –Laktose– $^{13}\text{C}$ –ureid–Atemtest zeigten Biskup H, Heine WE und Wutzke KD (1999), daß die gastrointestinale Transitzeit hochkalorischer Sondernahrungen bei Begrenzung auf eine Osmolalität von 460 mosmol/l und eine Energiedichte von 150 kcal/100 ml nicht wesentlich abweicht von der niederkalorischer Sondernahrungen.

## 5. Die Zukunft der $^{13}\text{C}$ -Atemtests

Wegen ihrer Einfachheit und Verträglichkeit werden sich  $^{13}\text{C}$ -Atemtests zu einem unentbehrlichen Mittel der klinischen Forschung und Diagnostik entwickeln. Im Vordergrund werden dabei die Ernährungsforschung, die Diagnose von Erkrankungen des Magen-Darm-Trakts, von Stoffwechsel-Anomalien und Problemen der postoperativen und parenteralen Ernährung stehen. Die Palette der Substrate für solche Tests wird immer breiter werden und die Kombination mehrerer  $^{13}\text{C}$ -markierter Substrate miteinander und mit  $^{14}\text{C}$ -markierten Substraten einschließen.

### 5.1. Entwicklungen auf dem Gebiete der Meßtechnik

Die im Laufe der letzten Jahrzehnte erreichten Fortschritte auf dem Gebiete der Analyse stabiler Isotope sichern den  $^{13}\text{C}$ -Atemtests eine große und rasch wachsende Rolle in der klinischen Forschung und Diagnostik.

Neben der Substitution des radioaktiven Isotops  $^{14}\text{C}$  durch das stabile Isotop  $^{13}\text{C}$  sind hier in erster Linie zu nennen

- die weitere Entwicklung nach dem Prinzip der nichtdispersiven Infrarotspektroskopie arbeitender  $^{13}\text{C}$ -Atemtestgeräte, die erheblich billiger und leichter zu bedienen sind als die massenspektrometrisch arbeitenden Geräte,
- der Übergang von nichtdispersiven Infrarotspektrometern mit zwei Strahlengängen zu solchen mit nur einem Strahlengang, einer Meßküvette und im Strahlengang hinter dieser angeordneten Strahlungsempfängern für  $^{12}\text{CO}_2$  und  $^{13}\text{CO}_2$  und
- die weitere Entwicklung speziell auf die Isotopenanalyse des Kohlenstoffs im Kohlendioxid orientierter Massenspektrometer unter Verzicht auf die sonst meist angestrebte Universalität der massenspektrometrischen Analyse.

Wir erwarten, daß die nichtdispersiven Infrarotspektrometer die massenspektrometrisch arbeitenden  $^{13}\text{C}$ -Atemtestgeräte weitgehend verdrängen werden.  $^{13}\text{C}$ -Atemtests mit Substraten, die ihre  $^{13}\text{C}$ -Markierung natürlichen Variationen der Isotopenzusammensetzung des Kohlenstoffs verdanken, könnten freilich eine Domäne der mit höherer Präzision arbeitenden Massenspektrometer bleiben. Auch für Meßzentren, die sehr große Probenzahlen zu bewältigen haben und deshalb mehr Wert auf große Probenspeicher und vollautomatischen Betrieb legen als auf einen niedrigen Anschaffungspreis des Geräts und eine umgehende Bereitstellung der Testergebnisse, könnte die Massenspektrometrie attraktiv bleiben. Der Vorteil der Massenspektrometrie, mit sehr kleinen Probenmengen auszukommen, spielt bei  $^{13}\text{C}$ -Atemtests kaum eine Rolle.

Ob die sich rasch entwickelnde Laser-Spektrometrie eines Tages mit der nichtdispersiven Infrarotspektrometrie in Wettbewerb treten wird, bleibt abzuwarten.

### 5.2. Entwicklungen auf dem Gebiete der Bereitstellung der Substrate

Ein Nachteil der  $^{13}\text{C}$ -Atemtests im Vergleich mit den früher auf den Plan getretenen  $^{14}\text{C}$ -Atemtests ist der — besonders bei Stoffen mit komplizierter chemischer Struktur — hohe Preis des Substrats. Hier räumen wir der pflanzlichen Biosynthese einige Chancen ein, zumal sie, von künstlich angereichertem  $^{13}\text{C}$  ausgehend, eine stattliche Zahl für Atemtests geeigneter  $^{13}\text{C}$ -markierter organischer Verbindungen in einem Zuge zu synthetisieren gestattet. Hinzu kommt, daß auf diesem Wege  $^{13}\text{C}$ -markierte Biomasse anfällt, die selbst oder nach Zerlegung in Fraktionen wie Eiweiß, Fette, Kohlenhydrate u. ä., als natürlichen Nahrungsmitteln ähnliche Substrate für  $^{13}\text{C}$ -Atemtests eingesetzt werden kann (Klein PD 1998).

Ein anderer, im Kapitel 2 schon erwähnter Weg, die pflanzliche Photosynthese zur

Herstellung  $^{13}\text{C}$ -markierter organischer Verbindungen zu nutzen, besteht darin, den bei der Photosynthese auftretenden Kohlenstoff-Isotopieeffekt auch für die Anreicherung des  $^{13}\text{C}$  selbst heranzuziehen (Wetzel K und Fischer H 1998).

Auf beiden Wegen ist auch die Synthese spezieller, im Zuge des Sekundärstoffwechsels entstehender biologischer Wirkstoffe wie Alkaloide oder ätherische Öle in  $^{13}\text{C}$ -markierter Form denkbar und — insbesondere angesichts der Perspektiven der Gentechnik — auch aussichtsreich.

Natürlich kann und wird auch die tierische Biosynthese zur Herstellung  $^{13}\text{C}$ -markierter organischer Stoffe herangezogen werden. Als Beispiele sei auf die Arbeiten von Evenepoel P, Claus D, Geypens P et al. (1998) und Evenepoel P, Geypens P, Luybaerts A et al. (1998) verwiesen.

### 5.3. Entwicklungen auf dem Gebiete der Verabreichung der Substrate

Substrate für  $^{13}\text{C}$ -Atemtests werden in der Regel oral appliziert. Es mag dies daran liegen, daß verhältnismäßig große Mengen des Substrats verabreicht werden müssen, um einen mit ausreichender Genauigkeit meßbaren Effekt in der Atemluft zu erzielen. Nicht zuletzt deshalb sind die meisten  $^{13}\text{C}$ -Atemtests ja auch auf die Untersuchung von Stoffwechselfvorgängen bzw. die Diagnostik von Erkrankungen des Magen-Darm-Trakts gerichtet. Durch Kapselung (Berry GT, Nissim I, Mazur AT et al. 1995) des Substrats in Materialien, die der Magensäure und den im Magen wirkenden Enzymen, nicht aber den von der Leber und der Bauchspeicheldrüse sezernierten Enzymen standhalten, ließe sich die Resorption im Duodenum von den Vorgängen im Magen getrennt untersuchen (Hartig W 1999).

Ansonsten sehen wir keinen Grund, auf die Entwicklung von  $^{13}\text{C}$ -Atemtests zu verzichten, bei denen das Substrat dem Probanden durch Infusion oder Injektion verabreicht wird. Bei Anwendung eines Substrats, das in dem im Magen herrschenden Milieu instabil ist, ist dies die nächstliegende Alternative. Auch sollte es so möglich werden, tiefer in die Geheimnisse der parenteralen Ernährung einzudringen bzw.  $^{13}\text{C}$ -Atemtests bei Patienten auszuführen, die nur parenteral ernährt werden können. Was eine rektale Verabreichung des Substrats betrifft, so verweisen wir auf den von Den-Hond E, Hiele M, Evenepoel P et al. (1998) beschriebenen  $^{14}\text{C}$ -Butyrat-Atemtest zur Untersuchung von Geschwüren im Dickdarm, der sich gewiß auch als  $^{13}\text{C}$ -Butyrat-Atemtest ausführen läßt. Als Beispiel für eine Verabreichung des Substrats durch intravenöse Injektion nennen wir die Untersuchung des oxidativen Abbaus von [ $^{13}\text{C}$ ]Galaktose in Patienten mit Galaktose-1-phosphat-Uridyltransferase-Mangel (Berry GT, Nissim I, Mazur AT et al. 1995).

### 5.4. Entwicklungen auf dem Gebiete der Beprobung

Anstatt die  $^{13}\text{C}$ -Ausscheidung mit dem Kohlendioxid der Atemluft zu messen, kann der metabolische Abbau des Substrats auch an Hand der  $^{13}\text{C}$ -Ausscheidung mit dem Faeces (Gallensäuren usw.) oder mit harnpflichtigen Substanzen wie Harnstoff, Kreatin oder Harnsäure bzw. an Hand der  $^{13}\text{C}$ -Häufigkeiten in Aminosäuren oder Proteinen des Plasmas verfolgt werden. Freilich wird in diesen Fällen das Gebiet der eigentlichen  $^{13}\text{C}$ -Atemtests mit seiner eleganten Probenaufbereitung für die Isotopenanalyse verlassen. Häufig werden in diesen Fällen die Methoden der Gaschromatographie-Massenspektrometrie bzw. der NMR-Spektrometrie zur Anwendung gebracht (Tofts PS und Wray S 1988; Mathews DF 1986).

Angesichts des großen Aufwands für die Isotopenanalyse werden diese Techniken allerdings schwerlich in die klinische Routine Eingang finden.

### 5.5. Entwicklung der Anwendungsgebiete

Gegenwärtig und gewiß auch in den nächsten Jahren dominiert der  $^{13}\text{C}$ -Harnstoff-Atemtest zur Diagnose von *Helicobacter pylori*-Infektionen alle anderen  $^{13}\text{C}$ -Atemtests, insbesondere wegen der Tatsache, daß solche Infektionen so ernsthafte Erkrankungen auslösen können wie Magen- und Zwölffingerdarmgeschwüre, maligne Magenlymphome und Magenkrebs. In dem Maße, wie diese Infektionen trotz der nachgewiesenen Fähigkeit des Erregers, Resistenz gegen Antibiotika zu erwerben, im Ergebnis der weiteren Verbreitung des  $^{13}\text{C}$ -Harnstoff-Atemtests und der wahrscheinlich möglichen Entwicklung von Impfstoffen gegen den *Helicobacter pylori* (Nedrud JG und Czinn SJ 1997; Czinn SJ und Nedrud JG 1991; Chen M, Lee A und Hazell SL 1992; Lee A und Fox JG 1997; Lee A, O'Rourke J, De Ungria MC et al. 1997; Kreiss C, Buclin T, Cosma M et al. 1996; Doidge C, Crust I, Lee A et al. 1994) zurücktreten werden, sollten und können den  $^{13}\text{C}$ -Atemtests neue bzw. bisher wenig beachtete Anwendungsgebiete erschlossen werden.

Wenn sich — was anzunehmen ist — die Vermutung bestätigen sollte, daß *Helicobacter pylori*-Infektionen auch andere Erkrankungen als solche des Magen-Darm-Trakts auslösen können (vgl. Abschnitt 4.2.), kann dem  $^{13}\text{C}$ -Harnstoff-Atemtest trotz dieser Tendenz auch auf lange Sicht eine ausgezeichnete Prognose gestellt werden.

Da sich herausgestellt hat, daß viele mit dem *Helicobacter pylori* infizierte Menschen anomale Befunde im oberen Teil des Magen-Darm-Trakts aufweisen (Hollenz M, Stolte M und Labenz J (1999), erscheint es notwendig, im Rahmen des öffentlichen Gesundheitswesens einen nicht-invasiven *Helicobacter pylori*-Screening-Test für asymptomatische Personen bereitzustellen. Auch im Zusammenhang mit Einschulungsuntersuchungen wäre an die Einführung solcher Tests zu denken (Gonser T, Rothenbacher T, Bode G et al. (1998). Wir gehen davon aus, daß der  $^{13}\text{C}$ -Harnstoff-Atemtest für diese Zwecke bestens geeignet wäre.

Wegen der Geringfügigkeit der Belastungen, die  $^{13}\text{C}$ -Atemtests dem Probanden auferlegen, wird ihre Anwendung in der Therapiekontrolle und bei der Erforschung epidemiologischer und ökochemischer Probleme eine rasch wachsende Rolle spielen. Als Beispiele seien genannt die Erforschung der Ursachen von *Helicobacter pylori*-Infektionen in Abhängigkeit von Faktoren wie Alter, Geschlecht, Rasse und Lebensstandard, die Untersuchung der Übertragungsmechanismen pathogener Mikroorganismen sowie die Erforschung der biologischen Wirkungen von Xenobiotika, insbesondere solcher, die uns als Schadstoffe in der Luft, im Trinkwasser und im Boden entgegentreten bzw. von dort in die Nahrungskette eintreten. In den zuletzt genannten Fällen ist auch an die Einbeziehung von Tierexperimenten zu denken, zumal die Probenahme hier wie auch bei Säuglingen und Kleinkindern mit Hilfe von Gesichtsmasken ohne weiteres möglich ist.

In Bezug auf epidemiologische Anwendungen von  $^{13}\text{C}$ -Atemtests verweisen wir auch auf Untersuchungen von Klein PD, Gilman RH, Leon-Barus R et al. (1994) über die Epidemiologie des *Helicobacter pylori* an Kindern in Peru.

Im Zusammenhang mit Untersuchungen an Säuglingen wird sich mit der Erforschung der ernährungsphysiologischen Wirkungen der Muttermilch einschließlich der wegen der zunehmenden Umweltverschmutzung darin enthaltenen lipophilen Noxen, insbesondere von polychlorierten Diphenyldioxinen und -furanen, ein weiteres wichtiges Anwendungsgebiet der  $^{13}\text{C}$ -Atemtests auftun.

Auch in der Anwendung von  $^{13}\text{C}$ -Atemtests zur (halb)quantitativen klinischen Diagnostik liegen zweifellos noch große Reserven. Die Beurteilung des klinischen Zustandes eines Probanden allein an Hand der Über- bzw. Unterschreitung eines cut-off-Werts ist wohl die einfachste, aber eben auch die primitivste Form der Bewertung von Ergebnissen klinischer Tests. Als richtungsweisende Beispiele für die Anwendung von Atemtests zur quantitativen Diagnostik seien genannt eine Arbeit von Gisbert JP, Pajares JM, Garcia-Valriberes R et al. (1998) über die Wiederkehr von *Helicobacter pylori*-Infektionen nach Eradikation, eine Untersuchung über die Beschleunigung der N-3-Demethylierung von Koffein durch Omeprazol-Gaben mittels des  $^{13}\text{C}$ -[N-3-methyl]-Koffein-Atemtests (Rost KL und Roots I 1994), eine Arbeit über die quantitative Bewertung des Galaktose-Stoffwechsels von Patienten mit Galaktose-Intoleranz unter Anwendung des [1- $^{13}\text{C}$ ]Galactose-Atemtests (Berry GT, Nissim I, Gibson JB et al. 1997) sowie eine Studie über die Charakterisierung der Leberfunktion bei Leberzirrhose mit Hilfe des [ $^{13}\text{C}$ ]Methazetin-Atemtests (Pfaffenbach B, Gotze O, Szymanski C et al. 1998).

Hsu HW, Butte NF, Wong WW et al. (1997) benutzten eine Kombination mehrerer  $^{13}\text{C}$ -Atemtests ( $^{13}\text{C}$ -Leucin-,  $^{13}\text{C}$ -Glucose- und  $^{13}\text{C}$ -Hiolein-Atemtest), um zu untersuchen, ob eine Insulin-Behandlung geeignet ist, den Eiweiß-, Kohlenhydrat- und Fettstoffwechsel von zuckerkranken Schwangeren zu normalisieren.

Auf einige weitere neue bzw. sich abzeichnende Anwendungsgebiete haben wir in anderem Zusammenhang bereits hingewiesen. Sie werden um der Geschlossenheit der Darstellung der Entwicklungstendenzen der  $^{13}\text{C}$ -Atemtests an dieser Stelle in Erinnerung gerufen:

- Die Anwendung von aus Biomasse, insbesondere aus Algen-Biomasse, hergestellten, natürlichen Nahrungsmitteln ähnlichen Substraten (vgl. Abschnitt 5.2.)
- Die Applikation von Substraten durch Infusion bzw. Injektion, insbesondere im Dienste der Erforschung und Anwendung der parenteralen Ernährung (vgl. Abschnitt 5.3.)
- Die Erforschung von Stoffwechselfvorgängen mittels  $^{13}\text{C}$ -markierter Verbindungen durch Messung der  $^{13}\text{C}$ -Ausscheidung mit den Faeces oder mit dem Urin oder durch Messung der  $^{13}\text{C}$ -Häufigkeit in Bestandteilen des Plasmas (vgl. Abschnitt 5.4.)

{ TC "Literaturverzeichnis" } **Literaturverzeichnis**

Adamek RJ und Bethke TD (1998): Cure of Helicobacter pylori Infection and Healing of Duodenal Ulcer: Comparison of Pantoprazole-Based One-Week Modified Triple Therapy versus Two-Week Dual Therapy. The International Pantoprazole HP Study Group. Am J Gastroenterol 93, 1919 – 1924

Aktieselskabet Brüel & Kjaer, Naerum, DK (1989): Photoacoustic Gas Analyser. DE 37 16 763

American Joint Committee on Cancer (1993): Manual for Staging of Cancer (4<sup>th</sup> ed.). J. B. Lippincott, Philadelphia, Pennsylvania, USA

Barr RG, Perman JA, Schoeller DA et al. (1978): Breath Tests in Pediatric Gastrointestinal Disorders: New Diagnostic Opportunities. Pediatrics 62, 393 – 401

Berman M, Shan E und Weiss MF (1962): The Routine Fitting of Data to Models. Biophys J 2, 275 – 285

Berry GT, Nissim I, Mazur AT et al. (1995): In Vivo Oxidation of [<sup>13</sup>C]Galactose in Patients with Galactose-1-phosphate Uridyltransferase Deficiency. Biochem Mol Med 56, 158 – 165

Berthold HK, Crain PF, Gouni I et al. (1995): Evidence for Incorporation of Intact Dietary Pyrimidine (but not Purine) Nucleosides into Hepatic RNA. Proc Natl Acad Sci USA 92, 10123 – 10127

Berthold HK, Jahoor F, Klein PD et al. (1995): Estimates of the Effect of Feeding on Whole Body Protein Degradation in Women Vary with the Amino Acid Used as Tracer. J Nutr 125, 2516 – 2527

Bielanski W und Konturek SJ (1996): New Approach to <sup>13</sup>C-Urea Breath Test: Capsule-based Modification with Low Dose of <sup>13</sup>C-Urea in the Diagnosis of Helicobacter pylori Infection. J Physiol Pharmacol 47, 545 – 553

Biskup H, Heine WE und Wutzke KD (1999): Magenentleerung und intestinale Transitzeit von hoch- und niederkalorischen Sondernahrungen. Akt. Ernähr.-Med. 24, 238 – 241

Blaser MJ, Kobayashi K, Cover TI et al. (1993): Helicobacter pylori Infection in Japanese Patients with Adenocarcinoma of the Stomach. Int J Cancer 55, 799 – 802

Bode G, Rothenbacher D, Brenner H et al. (1998): Pets Are not a Risk Factor for Helicobacter pylori Infection in Young Children: Results of a Population-Based Study in Southern Germany. Pediatr Infect Dis J 17, 909 – 912

Bonney RC (1997): The Developing Market for Helicobacter pylori Testing. In: Clinical Reports PJB Publications Ltd., Richmond, Surrey, UK

Börsch GM und Graham DY (1991): Helicobacter pylori. In: Collen MJ und Benjamin SB (eds.): Pharmacology of Peptic Ulcer Disease. In: Handbook of Experimental Pharmacology, Vol. 99, Springer-Verlag, Berlin, 107 – 148

Braden B, Duan LP, Caspary WF et al. (1994): More Convenient <sup>13</sup>C-Urea Breath Test

- Modifications still Meet the Criteria for Valid Diagnosis of *Helicobacter pylori* Infection. *Z Gastroenterol* 32, 198 – 202
- Braden B, Haisch M, Duan LP et al. (1994): Clinically Feasible Stable Isotope Technique at a Reasonable Price: Analysis of  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Abundance in Breath Samples with a New Isotope Selective Nondispersive Infrared Spectrometer. *Z Gastroenterol* 32, 675 – 678
- Braden B, Adams S, Duan LP et al. (1995): The [ $^{13}\text{C}$ ]Acetate Breath Test Accurately Reflects Gastric Emptying of Liquids in Both Liquid and Semisolid Test Meals. *Gastroenterol* 108, 1048 – 1055
- Braden B, Caspary WF und Lembcke B (1999): Nondispersive Infrared Spectrometry for  $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ -Measurements: A Clinically Feasible Analyser for Stable Isotope Breath Tests in Gastroenterology. *Z Gastroenterol* 37, 477 – 481
- Brenner H, Rothenbacher D, Bode G et al. (1999): Active Infection with *Helicobacter pylori* in Healthy Couples. *Epidemiol Infect* 122, 91 – 95
- Brenner H, Rothenbacher D, Bode G et al. (1999a): Inverse Graded Relation between Alcohol Consumption and Active Infection with *Helicobacter pylori*. *Am J Epidemiol* 149, 571 – 576
- Breuer T, Sudhop T, Hoch J et al. (1996): Prevalence and Risk Factors for *Helicobacter pylori* Infection in the Western Part of Germany. *Europ J Gastroenterol Hepatol* 8, 47 – 52
- Cadranel S, Corvaglia L, Botems P et al. (1998): Detection of *Helicobacter pylori* Infection in Children with a Standardised and Simplified  $^{13}\text{C}$ -Urea Breath Test. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 27, 275 – 280
- Casellas F, Lopez J, Borrueal N et al. (1999): The Impact of Delaying Gastric Emptying by either Meal Substrate or Drug on the [ $^{13}\text{C}$ ]Urea Breath Test. *Am J Gastroenterol* 94, 369 – 373
- Chen M, Lee A und Hazell SL (1992): Immunisation against Gastric *Helicobacter* Infection in a Mouse / *Helicobacter Felis* Mode. *Lancet* 339, 1120 – 1121
- Choi M-G, Camillery M, Burton DD et al. (1998): Reproducibility and Simplification of  $^{13}\text{C}$ -Octanoic Acid Breath Test for Gastric Emptying of Solids. *Am J Gastroenterol* 93, 92 – 98
- Choi M-G, Camillery M, Burton DD et al. (1998a): Dose-related Effects of N-dimethyl-N-isopropyl-8,9-anhydroerythromycin-A-6,9-hemiacetal on Gastric Emptying of Solids in Healthy Human Volunteers. *J Pharmacol Exp Ther* 285, 37 – 40
- Correa P (1991): Is Gastric Carcinoma an Infectious Disease? *N Engl J Med* 325, 1170 – 1171
- Czinn SJ und Nedrud JG (1991): Oral Immunisation against *Helicobacter pylori*. *Infect Immun* 59, 2359 – 2363
- Dehesa Violante M (1993): Metodos de diagnostico en infection por *Helicobacter pylori*. *Rev Gastroenterol Mex* 58, 87 – 95

Dellert SF, Nowicki MJ, Farrell MK et al. (1997): The  $^{13}\text{C}$ -Xylose Breath Test for the Diagnosis of Small Bowel Bacterial Overgrowth in Children. *J Pediatr Gastroenterol Nutrition* 25, 153 – 158

Den-Hond E, Hiele M, Evenepoel P et al. (1998): In Vivo Butyrate Metabolism and Colonic Permeability in Extensive Colonic Ulceritis. *Gastroenterology* 115, 584 – 590

Doidge C, Crust I, Lee A et al. (1994): Therapeutic Immunisation against Helicobacter Infection. *Lancet* 343, 914 – 915

Dominguez-Munoz JE, Leodolter A, Sauerbruch T et al. (1997): A Citric Acid Solution is an Optimal Test Drink in the  $^{13}\text{C}$ -Urea Breath Test for the Diagnosis of Helicobacter pylori Infection. *Gut* 40, 459 – 462

Eggers RH, Kulp A, Lüdtke FE et al. (1990): Characterisation of the  $^{13}\text{C}$ -Urea Breath Test for Diagnosis of Campylobacter pylori Infections. In: Chapman TE et al. (eds.): *Stable Isotopes in Pediatric Nutritional and Metabolic Research*. Intercept Ltd., Andover, Hampshire, UK

Eggers RH, Kulp A, Tegeler R et al. (1990): A Methodological Analysis of the  $^{13}\text{C}$ -Urea Breath Test for Detection of Campylobacter pylori Infections. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2, 437 – 444

Elektronik Mechanik Gerätebau GmbH, Westerdeich, Bremen, Bundesrepublik Deutschland (1997): Stabilisotopen-Analysator. WO 97/14952

Ellenrieder V, Glasbrenner B, Stoffels C et al. (1997): Qualitative and Semi-Quantitative Value of a Modified  $^{13}\text{C}$ -Urea Breath Test for Identification of Helicobacter pylori Infection. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 9, 1085 – 1089

Ellenrieder V, Fensterer H, Waurick M et al. (1998): Influence of Clarythromycin Dosage on Pantoprazole Combined Triple Therapy for Eradication of Helicobacter pylori. *Aliment Pharmacol Ther* 12, 613 – 618

Erno Raumfahrttechnik GmbH (1993): IR Spectroscopic Gas Analysis Appts. – Has Internal Reflective Hollow Spherical Sample Chamber. DE 42 03 166

Eurogast Study Group (1993): An International Association between Helicobacter pylori Infection and Gastric Cancer. *Lancet* 341, 1359 – 1362

European Helicobacter Pylori Study Group (1997): Current European Concepts in the Management of Helicobacter pylori Infection. The Maastricht Consensus Report. *Gut* 41, 8 – 13

Evenepoel P, Claus D, Geypens P et al. (1998): Evidence for Impaired Assimilation and Increased Colonic Fermentation of Protein, Related to Gastric Acid Suppression Therapy. *Aliment Pharmacol Ther* 12, 1011 – 1019

Evenepoel P, Geypens P, Luybaerts A et al. 1998): Digestibility of Cooked and Raw Egg Protein as Assessed by Stable Isotope Techniques. *J Nutr* 128, 1716 – 1722

Fabinski W (1992): Online-Analysatoren – Automatischer Abgleich mit internen Standards. *Staub – Reinhaltung der Luft* 52, 149 – 155

- Faust H, Junghans P, Matkowitz et al. (1981): Estimation of Protein Turnover in Patients with Liver Diseases Using  $^{15}\text{N}$ -labelled Glycine. Proc. 4<sup>th</sup> Int. Conf. on Stable Isotopes, Jülich, 319 – 324
- Fischer Analyseninstrumente GmbH (1997): Kohlenstoffisotopenanalysator. DE 297 06 668.4
- Fischer H (1998): Verfahren zur Kalibrierung nichtdispersiver Infrarot-Spektralanalysatoren. DE 198 47 351.6
- Fischer H und Kuhlmann B (1998): Verfahren zur Kalibrierung von Isotopenanalysatoren. DE 197 31 889
- Forman D (1995): The Prevalence of Helicobacter pylori Infection in Gastric Cancer. Aliment Pharmacol Ther 9 (Suppl. 2) 71 – 76
- Fuji Electric Co., Ltd., Kawasaki, Kanagawa, Japan (1995): Infrarot-Gasanalysator. DE 44 32 940.7
- Gasbarrini A, De-Luca A, Fiore G et al. (1998): Beneficial Effects of Helicobacter pylori Eradication on Migraine. Hepatogastroenterology 45, 765 – 770
- Gebhardt O, Wetzel K und Hübner G (1964): Über die Verwertung organischen Stickstoffs für die Synthese von Milch- und Körpereiweiß beim laktierenden Rind. Arch. Tierernährg. 14, 157 – 178
- Ghoos YF, Maes PD, Geypens PJ et al. (1993): Measurement of Gastric Emptying of Solids by Means of Carbon-Labelled Octanoic Acid Breath Test. Gastroenterol 104, 1640 – 1647
- Ghoos YF (1996):  $^{13}\text{C}$ -Urea Breath Tests at the Laboratory „Digestion – Absorption“. University Hospital Gathuisberg, Leuven, Belgium
- Gilger MA, Klein PD, Klish WJ et al. (1988): Scoring the  $^{13}\text{C}$ -Trioctanoine Breath Test to Predict Coefficient of Fat Absorption. Gastroenterol 94 A, 147
- Gisbert JP, Pajares JM, Garcia-Valriberes R et al. (1998): Recurrence of Helicobacter pylori Infection after Eradication: Incidence and Variables Influencing It. Scand J Gastroenterol 33, 1144 – 1151
- Gonser T, Rothenbacher T, Bode G et al. (1998): Möglichkeiten epidemiologischer Erhebungen im Rahmen von Einschulungsuntersuchungen am Beispiel der Ulmer Helicobacter pylori-Studien. Gesundheitswesen 60 (Suppl. 1), 24 – 29
- Graham DY, Evans D, Alpert L et al. (1987): Campylobacter pylori Detected Noninvasively by the  $^{13}\text{C}$ -Urea Breath Test. Lancet 1987, 1174 – 1177
- Graham DY, Malaty HM, Evans DG et al. (1991): Epidemiology of Helicobacter pylori in an Asymptomatic Population in the United States. Gastroenterol 100, 1495 – 1501
- Graham DY (1994): Determinants of Antimicrobial Effectiveness in H. pylori Gastritis. In: Hunt RH und Tytgat GNJ (eds.). Helicobacter pylori. Basic Mechanisms to Clinical Cure. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, 531 – 537

Graham DY und Genta RM (1994): Reinfection with *H. pylori*. In: Hunt RH und Tytgat GNJ (eds.). *Helicobacter pylori. Basic Mechanisms to Clinical Cure*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, 113 – 120

Graham KS und Graham DY (1998): *Contemporary Diagnosis and Management of Helicobacter pylori–Associated Gastrointestinal Diseases*. Handbooks in Health Care Co., Newtown, Pennsylvania, USA

Griffith GH, Owen GM, Kirkman S et al. (1966): Measurement of Gastric Emptying Using Chromium-51. *Lancet* 1966, 1244 – 1245

Hamlet AK, Erlandsson KIM, Olbe L et al. (1995): A Simple, Rapid and Highly Reliable Capsule-Based <sup>14</sup>C–Urea Breath Test for Diagnosis of *Helicobacter pylori* Infection. *Scand J Gastroenterol* 30, 1058 – 1063

Hansson LE, Engstrand L, Nyren O et al. (1993): *Helicobacter pylori* Infection: Independent Risk Factor of Gastric Adenocarcinoma. *Gastroenterol* 105, 1098 – 1103

Hanson LE, Nyren O, Hsing AW et al. (1996): The Risk of Stomach Cancer in Patients with Gastric or Duodenal Ulcer Disease. *N Engl J Med* 335, 242 – 249

Hartig W (1999): Persönliche Mitteilung

Haycock B, Schwartz GJ und Wisotski DH (1978): A Geometric Method for Measuring Body Surface Area: A Weight Height Formula Validated in Infants, Children and Adults. *J Pediatrics* 93, 62 – 66

Hazell SL und Lee H (1986): *Campylobacter pyloridis*, Urease, Hydrogen in Batch Diffusion and Gastric Ulcers. *Lancet* 1986, 15 – 17

Heine WE, Berthold HK und Klein PD (1996): A Novel Stable Isotope Breath Test: <sup>13</sup>C–Labelled Glycosyl Ureides Used as Noninvasive Markers of Intestinal Transit Time. *Am J Gastroenterol* 90, 93 – 98

Higashi Y, Ohara H, Naruki Y et al. (1996): Application of Laser Spectroscopy for <sup>13</sup>C–Breath Tests. *Kaku Igaku* 33, 415 – 421

Hildebrand P und Beglinger C (1997): Nondispersive Infrared Spectrometry: A New Method for the Detection of *Helicobacter pylori* Infection with the <sup>13</sup>C–Breath Test. *Clinical Infections Diseases* 25, 1003 – 1005

Hinsen U (1998): Diagnostik bei *Helicobacter pylori*–Infektion — Eine Langzeitstudie unter Berücksichtigung des Kostenaspekts. Dissertation der Hohen Medizinischen Fakultät der Westfälischen Wilhelms–Universität Münster

Hofmann F und Lauterburg BH (1977): Breath Tests With Isotopes of Carbon: Progress and Potential. *J Lab Clin Med* 90, 405 – 411

Hollenz M, Stolte M und Labenz J (1999): *Helicobacter pylori*–Screening in einer allgemeinärztlichen Praxis. *Dtsch Med Wochenschr* 124, 171 – 175

Hsu HW, Butte NF, Wong WW et al. (1997): Oxidative Metabolism in Insulin-Treated Gestational Diabetes mellitus. *Am J Physiol* 272 (6 Pt 1) E 1099 – 1107

Iida K, Chiyoda T und Kajiwara M (1996): *J Label Compds Radiopharm* 38, 1133 – 1138

Ingenieurhochschule Köthen, Bundesrepublik Deutschland (1988): Anordnung zur Identifikation und Korrektur des statischen Übertragungsverhaltens von zweikanaligen nichtdispersiven Absorptionsfotometern. DD 300 325

Irving CS, Schoeller DA, Nakamura K et al. (1982): The Aminopyrine Breath Test as a Measure of Liver Function. A Quantitative Description of Its Metabolic Basis in Normal Subjects. *J Lab Clin Med* 100, 356 – 373

Ishii T, Takatori K, Iida K et al. (1998): Optimum Conditions for the  $^{13}\text{C}$ -Phenylalanin Breath Test. *Chem Pharm Bull Tokyo* 46, 1330 – 1332

IUPAC (1978 und 1979): Nomenclature of Organic Chemistry, Section H. Isotopically Modified Compounds, issued by the Commission on Nomenclature of Organic Chemistry of the International Union of Pure and Applied Chemistry. Approved Recommendations: *Pure Appl Chem* 51 (1979) 353–380; *Europ J Biochem* 86 (1978) 9–25 und 102 (1979) 315–316

Johstone R (1996): *Mass Spectrometry for Chemists and Biochemists*. Cambridge University Press, Cambridge

Kajiwara M, Katsumi J, Takatori K et al. (1997): Validity of the  $^{13}\text{C}$ -Urea Breath Test for the Diagnosis of *Helicobacter pylori* Infection. *Chem Pharm Bull Tokyo* 45, 741 – 743

Kato M, Asaka M, Kudo T et al. (1998): Ten Minutes  $^{13}\text{C}$ -Urea Breath Test for the Diagnosis of *Helicobacter pylori* Infection. *J Gastroenterol* 33 (Suppl. 10), 40 – 43

Kikuchi S, Wada O, Nakajima T et al. (1995): Serum Anti-*Helicobacter pylori* Antibody and Gastric Carcinoma among Young Adults. *Cancer* 75, 2789 – 2793

Klatt S, Taut C, Mayer D et al. (1997): Evaluation of the  $^{13}\text{C}$ -Methacetin Breath Test for Quantitative Liver Function Testing. *Z Gastroenterol* 35, 609 – 615

Klein PD und Graham DY (1993): Minimum Analysis Requirements for the Detection of *Helicobacter pylori* Infection by the  $^{13}\text{C}$ -Urea Breath Test. *Am J Gastroenterol* 88, 1865 – 1869

Klein PD, Gilman RH, Leon-Barus R et al. (1994): The Epidemiology of *Helicobacter pylori* in Peruvian Children between 6 and 30 Months of Age. *Am J Gastroenterol* 89, 2196 – 2200

Klein PD, Malaty HM, Martin RF et al. (1996): Noninvasive Detection of *Helicobacter pylori* Infection in Clinical Practice. *Am J Gastroenterol* 91, 690 – 694

Klein PD (1998): Persönliche Mitteilung

Klein PD, Logan RP, Amarri S et al. (1998): Update on *Helicobacter pylori* Research and Diagnosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 9, 617 – 618

Klein PD, Malaty HM, Czinn SJ et al. (1998): Urea Hydrolysis Rate Calculation Normalises the  $^{13}\text{C}$ -Urea Breath Test for Age, Sex, Weight and Height. Zur Publikation vorgesehen in Am J Gastroenterol

Koletzko S, Haisch M, Seeboth E et al. (1995): Isotope-selective Nondispersive Infrared Spectrometry for Detection of Helicobacter pylori Infection with  $^{13}\text{C}$ -Urea Breath Test. Lancet 345, 961 – 962

Kreiss C, Buclin T, Cosma M et al. (1996): Safety of Oral Immunisation with Recombinant Urease in Patients with Helicobacter pylori Infection. Lancet 347, 1630 – 1631

Krüger N, Neubert B, Helge H et al. (1990): Induction of Caffein-Demethylations by 2,3,7,8-TCDD in Marmoset Monkeys Measured with a  $^{14}\text{CO}_2$ -Breath Test. Chemosphere 20, 1173 – 1176

Krüger N, Helge H und Norbert D (1991): Bedeutung von PCDDs/PCDFs („Dioxinen“) in der Pädiatrie. Monatsschr Kinderheilkd 139, 434 – 441

Krumbiegel P (1980): Isotope Terminology — Interregional Training Course Materials. Zfi-Mitteilungen, Leipzig, 33

Krumbiegel P, Teichmann B, Faust H et al. (1988): [ $^{15}\text{N}$ ]Methacetin Urine Test to Measure Liver Function. Methodology for Application in Pediatrics. J Pediatr Gastroenterol Nutr 7, 333 – 340

Krumbiegel P (1991): Stable Isotope Pharmaceuticals for Clinical Research and Diagnosis. Verlag Gustav Fischer, Jena, 57 – 72

Krumbiegel P (1991 a): Stable Isotope Pharmaceuticals for Clinical Research and Diagnosis. Verlag Gustav Fischer, Jena, 19 – 24

Labenz J, Gyenes E, Rhul GH et al. (1991): Amoxyllin-Omeprazole Treatment of Helicobacter pylori Infection. Eur J Gastroenterol Hepatol 3 (Suppl.1), 10

Lee A und Fox JG (1997): Animal Models for Vaccine Development. In: Ernst PB, Michetti P, Smith PD et al. (eds.). The Immunobiology of H. pylori: From Pathogenesis to Prevention. Philadelphia, Lippincot-Raven, 55 – 72

Lee A, O'Rourke J, De Ungria MC et al. (1997): A Standardised Mouse Model of Helicobacter pylori Infection: Introducing the Sidney Strain. Gastroenterol 112, 1386 – 1397

Lembcke B (1997): Atemtests bei Darmerkrankungen und in der gastroenterologischen Funktionsdiagnostik. Schweiz Rundsch Med Prax 86, 1060 – 1067

Leodolter A (1997):  $^{13}\text{C}$ -Harnstoff-Atemtest zur Diagnose der Helicobacter pylori-Infektion — Validierung und Optimierung des Testverfahrens. Dissertation bei der Otto von Guericke Universität Magdeburg, 27 – 30

Lifschitz CA, Boutton TW, Carazza TF et al. (1988): A Carbon-13 Breath Test to Characterise Glucose Absorption and Utilisation in Children. J Ped Gastroenterol Nutr 7, 842 – 847

- Lim AG, Wagner DA, Tosces PP et al. (1993):  $^{13}\text{C}$ -Xylose Breath Test for Bacterial Overgrowth. *Gastroenterol* 104, A 259
- Lind T, Megraud F, Unge P et al. (1999): The MACH2 Study: Role of Omeprazole in Eradication of *Helicobacter pylori* with 1-Week Triple Therapies [See Comments]. *Gastroenterology* 116, 248 – 253
- Lionetti P, Amarri S, Silenzi F et al. (1999): Prevalence of *Helicobacter pylori* Infection Detected by Serology and  $^{13}\text{C}$ -Urea Breath Test in Perinatally Infected Children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 28, 1 – 6
- Logan RPH, Dill S, Bauer FE et al. (1991): The European  $^{13}\text{C}$ -Urea Breath Test for the Detection of *Helicobacter pylori*. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 3, 915 – 921
- Logan RPH, Polsen RJ, Misiewicz JJ et al. (1991): Simplified Single Sample  $^{13}\text{C}$  Carbon Urea Breath Test for *Helicobacter pylori*: Comparison with Histology, Culture and ELISA Serology. *Gut* 32, 1461 – 1464
- Logan RPH, Gummet PH, Schaufelberger HD et al. (1994): Eradication of *Helicobacter pylori* with Clarithromycin and Omeprazole. *Gut* 35, 323 – 326
- Lotterer E, Ramaker J, Lüdtkke FE et al. (1991): The Simplified  $^{13}\text{C}$ -Urea Breath Test — One Point Analysis for Detection of *Helicobacter pylori* Infection. *Z Gastroenterol* 29, 590 – 594
- Ma JL, Jou WC, Gail MH et al. (1998): *Helicobacter pylori* Infection and Mode of Transmission in a Population at High Risk of Stomach Cancer. *Int J Epidemiol* 27, 570 – 573
- Maes BD, Ghos YF, Geypens BJ et al. (1995): Influence of Octreotide on the Gastric Emptying of Solids and Liquids in Normal Healthy Subjects. *Aliment Pharmacol Ther* 9, 11 – 18
- Malaty HM, el-Zimaity HM, Genta RM et al. (1996): Twenty-Minute Fasting Version of the US  $^{13}\text{C}$ -Breath Test for the Diagnosis of *Helicobacter pylori* Infection. *Helicobacter* 1, 165 – 167
- Mannesmann AG, Düsseldorf, Bundesrepublik Deutschland (1993): Nichtdispersives Infrarotspektrometer. EP 0584 897
- Marshall BJ und Warren JR (1984): Unidentified Curved Bacilli in the Stomach of Patients with Gastritis and Peptic Ulceration. *Lancet* 1984, 1311 – 1315
- Martin JG und Redgrave TG (1998): A  $^{13}\text{CO}_2$ -Breath Test to Assess the Metabolism of Triglyceride-rich Lipoprotein Remnants in Mice. *J Lipid Research* 39, 691 – 698
- Mathews DF (1986): A Critical Assessment of Methods of Measuring Metabolic Concentrations by NMR Spectroscopy. *NMR in Biomedicine* 1, 1 – 10
- Mendall MA, Goggin PM, Molineaux N et al. (1994): Relation of *Helicobacter pylori* Infection and Coronary Heart Disease. *British Health Journal* 71, 437 – 439

Mendall MA, Patel B, Ballam B et al. (1996): C-reactive Protein and Its Relation to Cardiovascular Risk Factors: A Population Based Cross-Sectional Study. *British Medical Journal* 312, 1061 – 1065

MIC Medical Instrument Corporation, Solothurn, Schweiz (1994): Vorrichtung zur Bestimmung des  $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ -Konzentrationsverhältnisses in einer Gasprobe. EP 0634 644

Mion F, Rousseau M, Brazier J-L et al. (1995): Human Hepatic Macrovesicular Steatosis: A Non-invasive Study of Mitochondrial Ketoisocaproic Acid Decarboxylation. *Metabolism* 44, 699 – 700

Miwa H, Murai T, Ohkura R et al. (1997): Effect of Fasting Subjects' Posture on  $^{13}\text{C}$ -Urea Breath Test for Detection of *Helicobacter pylori* Infection. *Helicobacter* 2, 82 – 85

Murnick PE und Peer BJ (1994): Laser-Based Analysis of Carbon Isotope Ratios. *Science* 263, 945 – 947

Nedrud JG und Czinn SJ (1997): Oral Immunisation for the Prevention and Treatment of Infection with *Helicobacter pylori*. In: Ernst PB, Michetti P, Smith PD et al. (eds.): *The Immunobiology of H. pylori: From Pathogenesis to Prevention*. Philadelphia, Lippincott-Raven, 273 – 286

Nomura A, Stemmermann GN, Chiou PH et al. (1991): *Helicobacter pylori* Infection and Gastric Carcinoma among Japanese Americans in Hawaii. *N Engl J Med* 325, 1132 – 1136

Nomura A und Stemmermann GN (1993): *Helicobacter pylori* and Gastric Cancer. *J Gastroenterol Hepatol* 8, 294 – 303

Ohara S, Kato M, Asaka M et al. (1989): The UbiT 100  $^{13}\text{CO}_2$  Analyser: Comparison between Infrared Spectrometric Analysis and Mass Spectrometric Analysis. *Helicobacter* 3, 49 – 53

Opekun AR Jr, Klein PD und Graham DY (1995): [ $^{13}\text{C}$ ]Aminopyrine Breath Test Detects Altered Liver Metabolism Caused by Low-Dose Oral Contraceptives. *Dig Dis Sci* 40, 2417 – 2422

Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd., Tokyo, Japan (1995): Method for Spectroscopically Measuring Isotopic Gas and Apparatus thereof. WO 97/140 29

Palocz-Andresen M (1995): Gerät für Infrarotanalysen von insbesondere gasförmigen Stoffen. DE 44 136 70

Parsonnet J, Friedman G, Vandersteen DP et al. (1991): *Helicobacter pylori* Infection and the Risk of Carcinoma. *N Engl J Med* 325, 1127 – 1131

Patel P, Mendall MA, Carrington D et al. (1995): Association of *Helicobacter pylori* and *Chlamydia pneumoniae* Infection with Coronary Heart Disease and Cardiovascular Risk Factors. *British Medical Journal* 311, 711 – 714

Perry F, Clemente R, Pastore M et al. (1998): The  $^{13}\text{C}$ -Urea Breath Test as a Predictor of Intra-gastric Bacterial Load and Severity of *Helicobacter pylori* Gastritis. *Scand J Clin Lab Invest* 58, 19 – 28

- Perry F, Clemente R, Pastore M et al. (1998a): Helicobacter pylori Infection May Undergo Spontaneous Eradication in Children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 27, 181 – 183
- Pfaffenbach B, Wegener M, Adamek RJ et al. (1995): Nicht-invasiver  $^{13}\text{C}$ -Octansäure-Atemtest zur Messung der Magenentleerung einer festen Testmahlzeit — Korrelation mit der Szintigraphie bei Diabetikern und Reproduzierbarkeit bei gesunden Probanden. *Z Gastroenterol* 33, 141 – 145
- Pfaffenbach B, Schaffstein J, Adamek RJ et al. (1996):  $^{13}\text{C}$ -Acetat-Atemtest zur nichtinvasiven Beurteilung der Magenentleerung einer flüssig-festen Testmahlzeit bei Diabetikern. *Dtsch. Med. Wschr.* 121, 713 – 718
- Pfaffenbach B, Gotze O, Szymanski C et al. (1998): The [ $^{13}\text{C}$ ]Methacetin-Breath Test for Quantitative Liver Function Analysis with an Isotope-Specific Nondispersive Infrared Spectrometer in Liver Cirrhosis. *Dtsch Med Wochenschr* 123, 1467 – 1471
- Pfeifer S, Pfflegel P und Borchert HH (1984): Pharmakokinetik, Bioverfügbarkeit und Biotransformation. Verlag Volk und Gesundheit, Berlin
- Rost KL und Roots I (1994): Accelerated Caffeine Metabolism after Omeprazole Treatment is Indicated by Urinary Metabolic Ratios. Coincidence with Plasma Clearance and Breath Test. *Clin Pharmacol Ther* 55, No. 4, 402 – 411
- Rothenbacher D, Bode G, Adler G et al. (1997): Use of Commonly Prescribed Antibiotics is Not Associated with Prevalence of Helicobacter pylori Infection in Adults. *J Gastroenterol* 32, 1096 – 1099
- Rothenbacher D, Bode G, Berg G et al. (1998): Prevalence and Determinants of Helicobacter pylori Infection in Pre-School Children: A Population-Based Study from Germany. *Int J Epidemiol* 27, 135 – 141
- Rothenbacher D, Bode G, Berg G et al. (1999): Helicobacter pylori among Pre-School Children and Their Parents: Evidence of Parent-Child Transmission. *J Infect Dis* 179, 398 – 402
- Sauer PJJ, Lafeber HN und Sulkers EJ (1988): Measurement of Energy Metabolism by Stable Isotopes and Indirect Calorimetry. *Klin Ern* 34. Use of Stable Isotopes in Clinical Research and Practice. Int. Workshop Berlin, Zuckerschwerdt, München, 62 – 69
- Schoeller EA und Klein PD (1979): A Microprocessor Controlled Mass Spectrometer for the Fully Automated Purification and Isotope Analysis of Breath Carbon Dioxide. *Biomed Mass Spectrom* 6, 355 – 359
- Schofield WN (1985): Predicting Basal Metabolic Rates: New Standards and Review of Previous Work. *Hum Nutr* 34 C (Suppl. 1), 5 – 41
- Schröder E (1991): Massenspektrometrie. Springer, Berlin et al.
- Shreeve WW, Cerasi E und Luft R (1970): Metabolism of [ $2\text{-}^{14}\text{C}$ ]Pyruvate in Normal, Acromegalic and HGH-treated Human Subjects. *Acta Endocrinol* 65, 55 – 69

Shuishi Miyakawa MD, Makoto Hayakawa MD, Abihiko Horiguchi MD et al. (1996): Estimation of Fat Absorption with the  $^{13}\text{C}$ -Trioctanoin Breath Test after Pancreatoduodenectomy or Pancreatic Head Resection. *World J Surg* 20, 1024 – 1029

Siemens AG (1997): Infrared Gas Analyser. DE 196 47 632

Siemens AG (1997a): Non-dispersive Gas Analyser. DE 196 08 907

Sipponen P, Kosunen TU, Valle S et al. (1992): Helicobacter pylori Infection and Chronic Gastritis in Gastric Cancer. *J Clin Pathol* 45, 319 – 323

Sipponen P (1994): Gastric Cancer — A Long Term Consequence of Helicobacter pylori Infection. *Scand J Gastroenterol* 29 (Suppl. 201) 24 – 27

Sipponen P, Riihelä M, Hyvarinen H et al. (1994): Chronic Non-atrophic (“Superficial”) Gastritis Increases the Risk of Gastric Carcinoma — A Case-Control Study. *Scand J Gastroenterol* 29, 336 – 340

Sprinson DB und Rittenberg D (1949): The Rate of Interaction of the Amino Acids of the Diet with Tissue Proteins. *J Biol Chem* 180, 715 – 726

Suehiro M, Kuroda A, Maeda M et al. (1987): Automated  $^{13}\text{C}$  Analysing System for the  $^{13}\text{C}$  Breath Test. *Radioisotopes* 36, 7 – 13

Taniguchi Y, Kimura K, Sato K et al. (1995): Substitute, Inexpensive Diagnostic Analysis of Helicobacter pylori Infection by Infrared (IR) Spectrophotometer for  $^{13}\text{C}$ -Urea Breath Test. *Gastroenterology* 109, A 953

Tanis AA, van den Berg JW, Kroneman R et al. (1998): Human Liver Glycogen Metabolism Assessed with a  $^{13}\text{C}$ -Enriched Diet and a  $^{13}\text{C}$ -Breath Test. *Eur J Clin Invest* 28, 466 – 474

Tofts PS und Wray S (1988): Amino Acid and Substrate Turnover in Man Using GC-MS. In: Dietze G et al. (eds.): *Clinical Nutrition and Metabolic Research. Proc. 7, Congress ESPEN, München 1985*, Karger, Basel, 208 – 222

VEB Junkalor Dessau, Bundesrepublik Deutschland (1988): Einrichtung zum Nullabgleich des Meßsignals in einem nichtdispersiven Infrarot-Gasanalysator. DD 269 444

Wegener M, Schaffstein J und Börsch G (1988): Physiologie und Pathologie der Magenentleerung. *Grundlagen, Untersuchungsmethoden und Therapie. Med Klin* 10, 331 – 335

Wetzel K, Hübner G und Gebhardt O (1961): Zur Auswertung von Markierungsversuchen in dynamischen Systemen. *Abh dtsh Akad Wiss Berlin, Klasse Chemie, Geologie, Biologie, H.* 7, 613 – 619

Wetzel K, Hübner G und Gebhardt O (1963): Mathematische Analyse der Verwertung von zugefüttertem Ammoniumbicarbonat für die Synthese von Milch- und Körpereweiß. *Arch. Tierernährg.* 13, 424 – 442

Wetzel K, Gebhardt O und Hübner G (1966): Untersuchungen zum N–Stoffwechsel beim laktierenden Rind unter Verwendung von oral verabreichtem Harnstoff–(<sup>15</sup>N). 12. Mitt.: Verwertung von zugefüttertem Harnstoff für die Synthese von Milch- und Körpereweiß bei Milchkühen. Arch Tierernährg 16, 425 – 435

Wetzel K, Gebhardt O und Hübner G (1966 a): Über die Verwertung von NPN–Verbindungen für die Synthese von Milch- und Körpereweiß beim laktierenden Rind. Z Naturforsch 21 b, 183 – 187

Wetzel K, Winkler E, Faust H et al. (1968): Über die Auswertung von Markierungsexperimenten zum Stickstoff–Stoffwechsel von Pflanzen mittels Modellbetrachtungen. studia biophysica Berlin 11, 27 – 39

Wetzel K und Gerstenberger H (1978): Verfahren zur Bestimmung des relativen <sup>13</sup>C–Gehalts der Atemluft. DD 137 323

Wetzel K, Junghans P, Faust H et al. (1979): New Results in the Use of <sup>15</sup>N in Medical Research. Proceedings of the III. International Conference on Stable Isotopes, Oak Brook, Illinois, 23. –26. May 1978. Academic Press New York et al. 591 – 609

Wetzel K und Fischer H (1998): Verfahren zur Herstellung <sup>13</sup>C–markierter Verbindungen. DE 198 20 078.1

Wetzel K und Fischer H (1998a): Über die Interpretation bei <sup>13</sup>C–Atemtests gewonnener Meßergebnisse. Unveröffentlichte Arbeit

Winkler E, Faust H, Wetzel K et al. (1978): Theoretische Aspekte der Untersuchung des Stickstoffmetabolismus mit <sup>15</sup>N beim Menschen. II. Probleme der Auswertung und Interpretation klinischer Untersuchungen. Isotopenpraxis 14, 367 – 372