

# Kurzzusammenfassung

Eine Missregulation zwischen oxidativen Prozessen und antioxidativer Abwehr kann im Organismus zu oxidativem Stress führen. Durch nichtenzymatische oxidative Vorgänge können dabei aus Arachidonsäure Isoprostane gebildet werden. Aus der Vielzahl von Isoprostanen gilt das Isomer IPG  $F_{2\alpha}$  als stabile Markersubstanz und Goldstandard der Analytik von oxidativem Stress *in vivo*. Die vorliegende Arbeit sollte prüfen, ob bei Tauchern als Modell zur Erzeugung von oxidativem Stress durch die Sauerstoffbelastung ein Anstieg der IPG  $F_{2\alpha}$ -Konzentrationen in Urin nach Tauchgängen messbar war. Zur selektiven Bestimmung des Zielanalyten IPG  $F_{2\alpha}$  wurde erstmalig eine quantitative LC-DMS-MS/MS-Methode etabliert und validiert. Die im Rahmen der Methodenentwicklung geprüften Extraktionsarten (Festphasenextraktion, Festphasen-unterstützte Flüssigextraktion) zeigten für die Matrix Urin starke Suppressionseffekte. Es war daher fraglich, ob die in den Taucherproben vermuteten geringen Konzentrationen von IPG  $F_{2\alpha}$  zuverlässig messbar waren. Zur Verringerung der Matrixeffekte wurde die Chromatographie verändert, um eine bessere Abtrennung der supprimierend wirkenden Matrixbestandteile zu erreichen. Dadurch wurde eine aufwändige und damit fehleranfällige Probenvorbereitung überflüssig. Durch eine einfache Verdünnung der Proben mit einer Lösung des internen Standards (Dilute & Shoot) konnte in jedem Urin ein deutliches Signal des Zielanalyten IPG  $F_{2\alpha}$  gemessen werden.

Die Anwendung der validierten Methode an Taucherurinen (n=234) zeigte, dass die IPG  $F_{2\alpha}$ -Konzentration pro Creatinin im Median direkt nach einem Tauchgang signifikant um +6 % (Mittel +10 %) erhöht war im Vergleich zum Ausgangswert vor der körperlichen Belastung unter Sauerstoffexposition. Zum ersten Mal wurde diese Erhöhung mit der dafür verantwortlichen Sauerstoffbelastung korreliert. Dabei zeigte sich eine signifikant lineare Abhängigkeit zwischen dem Anstieg der Messwerte und der Sauerstoffbelastung durch die Tauchgänge.

In jeder Probe konnte zusätzlich ein vom Zielanalyten deutlich abgetrenntes Signal des Isomers 15(R)-IPG  $F_{2\alpha}$  gemessen werden. Daher wurde dieses Isomer als potentieller Alternativmarker des oxidativen Stresses evaluiert. Hierbei zeigte sich ein geringerer und nicht signifikanter Anstieg der Konzentration pro Creatinin von +1 % im Median (Mittel +4 %) nach einem Tauchgang. Somit war das Isomer 15(R)-IPG  $F_{2\alpha}$  ein weniger sensibler Marker des oxidativen Stresses als der Zielanalyt IPG  $F_{2\alpha}$ . Die auch hier zum ersten Mal durchgeführte Korrelation der Konzentrationserhöhung mit der Sauerstoffbelastung zeigte einen signifikant linearen Zusammenhang zwischen dem Anstieg der Messwerte und der Sauerstofflast durch die Tauchgänge.

Anhand der Taucherurine (n=234) wurden Messungen mit und ohne Differentielle Mobilitätsspektrometrie (DMS) verglichen. Hierbei wurde geprüft, ob die verwendete Messmethode auch mit LC-MS/MS-Systemen ohne DMS-Modul nutzbar war. Durch die Verwendung der DMS kam es zu +3 % höheren IPG  $F_{2\alpha}$ -Messwerten. Dieser statistisch signifikante Unterschied war für die praktische Anwendung nicht relevant, insbesondere für Vorher-Nachher-Vergleiche von Proben desselben Individuums. Die entwickelte Methode konnte auch ohne DMS-Zusatzausrüstung verwendet werden. Dennoch zeigte das DMS-Modul in den Messreihen eine höhere Selektivität und das Signal-Rausch-Verhältnis (S/N) verbesserte sich um den Faktor 3,5 im Vergleich zu Messungen ohne DMS.