

Abschlussbericht zum Vorhaben
„Irritative Effekte: Modulation und
Verläufe chemosensorischer Effekte“
Kurztitel: „Irritative Effekte IV“
Vorhabenskennzeichen: FP-0399

*Komparative Gesamtschau der
Expositionsexperimente der drei Module*

Laufzeit

01.08.2016 – 31.10.2021

Bericht vom 28.02.2022

Autoren

Christine Hucke
Stefan Kleinbeck
Jörg Reinders
Michael Schäper
Christoph van Thriel

Inhaltsverzeichnis

Kurzfassung (deutsch)	5
Kurzfassung (englisch)	8
1 Problemstellung	11
2 Forschungszweck/-ziel	11
3 Methodik	13
3.1 Vergleichende Ergebnisübersicht	13
3.2 Gemeinsamkeiten und Unterschiede der Experimente	15
3.3 Eingesetzte Messmethoden.....	19
3.4 Statistische Analysen.....	21
4 Ergebnisse des Gesamtvorhabens	23
4.1 Gemeinsame Betrachtung aller Versuchspersonen der vier Experimente	23
4.1.1 Subjektive Einschätzungen (zusammenfassende Auswertung).....	23
4.1.1.1 Labeled Magnitude Scale (LMS)	26
4.1.1.2 Swedish Performance Evaluation Scale (SPES).....	28
4.1.1.3 Befindensskalierung	30
4.1.2 Fazit der gemeinsamen Betrachtung der subjektiven Einschätzungen aller Versuchspersonen.....	33
4.1.3 Physiologische Methoden	34
4.1.3.1 Atemfrequenz und –tiefe	35
4.1.3.2 Lidschlussfrequenz	37
4.1.3.3 Nasale Lavage Flüssigkeit (NALF).....	40
4.1.3.4 Rhinometrie und Rhinomanometrie	42
4.1.3.5 Fraktioniertes exhalierendes Stickstoffmonoxid (FeNO)	43
4.1.4 Fazit der gemeinsamen Betrachtung der physiologischen Methoden für alle Versuchspersonen.....	43
4.2 Unterscheiden sich die Ergebnisse der Experimente voneinander?	44
4.2.1 Der Einfluss des Experiments.....	45
4.2.1.1 Vergleich der Kontrollbedingungen der Experimente (subjektive Einschätzungen)	45
4.2.1.1.1 Labeled Magnitude Scale (LMS)	45
4.2.1.1.2 Swedish Performance Evaluation Scale (SPES).....	49
4.2.1.1.3 Befindensskalierung	50

4.2.1.2	Vergleich der Experimentalbedingungen der Experimente (subjektive Einschätzungen).....	50
4.2.1.2.1	Labeled Magnitude Scale (LMS)	51
4.2.1.2.2	Swedish Performance Evaluation Scale (SPES).....	53
4.2.1.2.3	Befindensskalierung	53
4.2.1.3	Ergebnisse der Lidschlussfrequenz im Vergleich der Experimente (Kontroll- und Experimentalbedingungen)	53
4.2.1.4	Ergebnisse der restlichen physiologischen Messungen im Vergleich der Experimente (Kontroll- und Experimentalbedingungen)	59
4.2.1.4.1	Nasale Lavage Flüssigkeit (NALF).....	59
4.2.1.4.2	Rhinometrie/Rhinomanometrie	64
4.2.1.4.3	Fraktioniertes exhalierendes Stickoxid (FeNO)	65
4.2.2	Vergleichende Darstellung experimenteller Variationen der Experimente (LMS).....	68
4.2.3	Einflussfaktor Dauer (LMS).....	70
4.2.4	Quantitativer Vergleich der experimentellen Variationen (LMS und SPES)	75
4.2.5	Augenreizung: objektive vs. subjektive Messungen.....	84
5	Auflistung der für das Vorhaben relevanten Veröffentlichungen, Schutzrechtsanmeldungen und erteilten Schutzrechte von nicht am Vorhaben beteiligten Forschungsstellen	89
6	Bewertung der Ergebnisse hinsichtlich des Forschungszwecks/-ziels, Schlussfolgerungen	90
7	Aktueller Umsetzungs- und Verwertungsplan	92
8	Anhang.....	94
8.1	Messmethoden	94
8.1.1	Physiologische Methoden.....	94
8.1.1.1	Lidschlussfrequenzmessung	94
8.1.1.2	Analyse der Nasalen Lavage-Flüssigkeit (NALF)	94
8.1.1.2.1	Substanz P.....	94
8.1.1.2.2	High-Mobility-Group-Protein B1 (HMGB1)	95
8.1.1.2.3	Interleukin 10 (IL-10)	95
8.1.1.3	Akustische Rhinometrie.....	95
8.1.1.4	Rhinomanometrie.....	95
8.1.1.5	Fraktioniertes exhalierendes Stickoxid (FeNO)	95
8.1.2	Subjektive Einschätzungen.....	96
8.1.2.1	Labeled Magnitude Scale (LMS)	96

8.1.2.2	Swedisch Performance Evaluation System (SPES)	96
8.1.2.3	Befinden.....	96
8.1.3	Verhalten.....	96
8.1.3.1	Arbeitsgedächtnis-Test.....	96
8.1.3.2	Test zur geteilten Aufmerksamkeit	96
8.1.3.3	Flankierreiz-Aufgabe.....	97
8.1.3.4	Mackworth-Uhr-Test	97
8.2	Ablaufpläne	98
8.3	Übersicht ausgewählter, signifikanter Effekte in den Einzelexperimenten	100
9	Literaturverzeichnis	101
10	Unterschriftenseite	104

Kurzfassung (deutsch)

Das durch die DGUV geförderte Forschungsprojekt „Irritative Effekte IV“ (FP-0399) untersucht den Einfluss effektmodulierender Faktoren für einen Reizstoff auf unterschiedlichen Ebenen (Erleben, Physiologie und Verhalten). Es ist in drei Module gegliedert, „körperliche Arbeit“, „akute Effektverläufe“ und „Sensibilisierung“ und diente der Untersuchung von Einflussfaktoren, die bei der Übertragung von Ergebnissen aus experimentellen Expositionsstudien auf die Arbeitswelt berücksichtigt werden müssen. In insgesamt vier umfangreichen, experimentellen Human-Expositionsstudien werden die Sensitivität von Personen, moderate körperliche Arbeit und der Einfluss von Spitzenexpositionen und Expositionsdauer untersucht. Aufgrund der Empfehlung des Forschungsbegleitkreises wurde in allen experimentellen Untersuchungen der Reizstoff Ameisensäure verwendet. Da die Ergebnisse zu den einzelnen effektmodulierenden Faktoren bereits vollumfänglich in den Zwischenberichten dargestellt wurden (Anlage zu diesem Abschlussbericht), wird der Abschlussbericht in Abstimmung mit dem Forschungsbegleitkreis dazu genutzt, darüberhinausgehende Analysen des Reizstoffes Ameisensäure durchzuführen, die einen Vergleich und eine Einordnung der gefundenen Einflüsse effektmodulierender Faktoren ermöglichen. Diese komparative Zusammenfassung der vier experimentellen Human-Expositionsstudien gegenüber Ameisensäure umfasst eine Gesamtzahl von 148 Proband*innen. Ähnlichkeiten zwischen den Experimenten erlauben eine reliable und valide Analyse des Einflusses der Expositionshöhe und der Expositionsdauer von Ameisensäure. Der Einfluss von Begleit- oder Vorerkrankungen (Allergie), körperlicher Arbeit und der Einfluss von Expositionseigenschaften (Expositionsspitzen, Gesamtexpositionsdauer) können somit z.T. experimentübergreifend analysiert und eingeordnet werden.

Während die Ameisensäure-Exposition (in Höhe des MAK-Wertes) deutliche Auswirkungen auf nahezu alle subjektiven Einschätzungen hat, hat die Ameisensäure-Exposition nur vereinzelte, kleinere Auswirkungen auf physiologische Messungen: Rhinometrie-Maße (größere Volumina nach Exposition) und einen Effekt auf die Lidchlussfrequenz zum Ende der letzten Messung. Die Expositionsdauer beeinflusst die subjektiven Einschätzungen systematisch: olfaktorische Empfindungen nehmen über die Zeit ab, unspezifische trigeminale Empfindungen der Nasenreizung, wie Nasenreizung, Niesreiz und Kitzelnd, nehmen über die Zeit zu, andere trigeminale Einschätzungen (z.B. Brennend und Stechend) und die

empfundene Lästigkeit bleiben gleich. Die Zunahme eines Entzündungsmarkers (High-Mobility-Group-Protein B1/ HMGB1) in der nasalen Lavageflüssigkeit ist vor allem unmittelbar nach einer Spitzenexposition von Ameisensäure sichtbar.

Während die Allergie als Effektmodulator nahezu keinen Einfluss auf die gemessenen subjektiven Einschätzungen hat, zeigen sich expositionsabhängige, effektverstärkende Einflüsse der Allergie auf die Lidschlussfrequenz.

Die körperliche Arbeit hat leichte Effekte auf subjektive Einschätzungen unspezifischer Nasenreizung bei Ameisensäure-Exposition. Auswirkungen der körperlichen Arbeit auf einen Entzündungsmarker für die mittleren und unteren Atemwege (fraktioniertes exhalierendes Stickstoffmonoxid/FeNO) sind sichtbar, aber sehr gering. Körperliche Arbeit hat Auswirkungen auf die Atemfrequenz und -tiefe, die aber unabhängig von der Ameisensäure-Exposition sind. Körperliche Arbeit in Kombination mit Ameisensäure-Exposition führt zu erhöhten HMGB1-Werten in der der nasalen Lavageflüssigkeit.

Eine Verlängerung der Expositionszeit hat Auswirkungen auf die subjektiven Einschätzungen sogar in der Kontrollbedingung ohne Exposition (hier verlängert sich nur die Zeit im Labor) und auf vereinzelte Empfindungen in der MAK-Exposition: vor allem auf unspezifische Empfindungen der Nasenreizung; der in den ersten Stunden der Exposition gefundene ansteigende Trend setzt sich also fort.

Die Reihenfolge unterschiedlicher Expositionsszenarien (Konzentrationsspitzen) innerhalb einer Arbeitsschicht hat große Auswirkungen auf subjektive Einschätzungen, wenn eine konstante Exposition in Höhe des MAK-Werts auf eine Spitzenexposition mit gleichem Schichtmittelwert folgt: Die Einschätzungen sind dann deutlich höher im Vergleich zur gleichen Exposition zu Beginn der Expositionszeit.

Die Größe der Effekte wird rein deskriptiv bei den subjektiven Einschätzungen verglichen; eine gemeinsame statistische Analyse ist aufgrund von Unterschieden in den Experimenten nicht möglich. Der größte Effekt wird durch die Ameisensäure-Exposition im Vergleich zur Kontrollexposition hervorgerufen, gefolgt vom Effekt der Reihenfolge von Spitzenexpositionen (beides führt zu deutlichen Zunahmen in allen Einschätzungen). Die Expositionsdauer hat ebenfalls deutliche Effekte in beide Richtungen: Abnahme über die Zeit

bei olfaktorischen Einschätzungen, Zunahme über die Zeit bei einigen trigeminalen Einschätzungen. Die körperliche Arbeit hat kleinere Auswirkungen auf einige trigeminale Einschätzungen (u.a. Nasenreizung und Niesreiz) bei Ameisensäure-Exposition in Höhe des MAK-Werts.

Empfundene Augenreizung / okuläre Symptome wurden zur Lidschlussfrequenz in Beziehung gesetzt. Vor allem zu Beginn zeigen sich hohe Übereinstimmungen zwischen subjektiven Einschätzungen und der Lidschlussfrequenz. Beim Vergleich der Kontroll- und Expositionsbedingungen zeigt sich, dass Ameisensäure-Exposition einen zusätzlichen Effekt auf die subjektiven Einschätzungen der Augenreizungen hat, der in den Lidschlüssen nicht in dem Ausmaß zu sehen ist.

Kurzfassung (englisch)

The research project “Irritative Effekte IV” (irritational effects IV” / FP-0399) funded by DGUV investigates the impact moderating factors on different levels (perception, physiology, and behavior). The project is subdivided into three modules – “körperliche Arbeit“ (physical workload), “akute Effektverläufe“ (courses of acute effects) und “Sensibilisierung“ (sensitization). It investigates moderating factors that should be considered when experimental exposure studies have to be transferred to work environments. In four comprehensive, experimental human exposure studies, the influence of sensitivity of subjects, moderate physical workload, and exposure peaks and exposure time. As recommended by the “Forschungsbegleitkreis” (research advisory board), formic acid was used as a local irritant in all experiments. The results of the investigation of the modulating factors were - to the full extent – presented in the interim reports enclosed in the appendix. Therefore, this final report is used to compare and to classify the extent of effects of the modulating factors. This comparative summary of four experimental human exposure studies using formic acid comprises a total number of 148 subjects. Similarities between the experiments allow for a reliable and valid analysis of the influences of exposure level and exposure duration. The influences of corollary and pre-existing diseases (allergy), physical work, and the influence of exposure characteristics (exposure peaks, total exposure duration) can, thus, be partly analyzed and classified across experiments.

While formic acid exposure (at the level of the MAK-value) shows clear effects on almost all subjective assessments, formic acid exposure only has isolated, smaller effects on physiological measurements: Rhinometry measures (larger volumina after exposure) and an effect on eyelid closure frequencies at the end of the last measurement. Exposure duration systematically affects subjective assessments: olfactory sensations decrease over time, nonspecific trigeminal sensations of nasal irritation, such as nasal irritation, sneezing irritation, and tickling, increase over time, other trigeminal assessments (e.g., burning and stinging) and annoyance remain the same. An increase in an inflammation marker (High-Mobility-Group-Protein 1/ HMGB1) in nasal lavage fluid is most apparent immediately following peak exposure to formic acid.

While the allergy as a pre-existing condition has almost no influence on the measured subjective assessments, exposure-dependent, effect-enhancing influences of the allergy on the eyelid closure frequency are evident.

Physical work shows slight effects on subjective assessments of nonspecific nasal irritation especially with formic acid exposure. Effects of physical work on middle and lower airways (Fractional exhaled Nitric Oxide/FeNO) are visible but very small. Physical work has effects on respiratory rate and depth, but these are independent of formic acid exposure. Physical work in combination with formic acid exposure leads to increased HMGB1 levels in nasal lavage fluid.

Prolongation of the exposure time has effects on subjective assessments even in the control condition without exposure (only time in the laboratory is extended) and on single sensations in the MAK exposure: mainly on nonspecific sensations of nasal irritation, so the increasing trend found in the first hours of exposure continues.

The sequence of different exposure levels, especially peaks, in one single work shift has a great impact on subjective assessments, if a constant exposure at the level of the MAK value follows a peak exposure with the same mean shift value: The estimates are then significantly higher compared to the same exposure at the beginning of the shift.

The magnitude of the effects is compared purely descriptively in the subjective assessments, a joint statistical analysis is not possible due to differences in the experiments. The largest effect is observed by formic acid exposure compared to control exposure, followed by the sequence effect (both leading to significant increases in all assessments). Exposure duration also has considerable effects in both directions: Decrease over time in olfactory assessments, increase over time in some trigeminal assessments. Physical work has smaller effects on some trigeminal assessments (e.g. nasal irritation and sneezing) with exposure to formic acid at the MAK level.

Perceived eye irritation / ocular symptoms were related to eyelid closure frequency. Especially at the beginning, high correlations between subjective assessments and eyelid closure frequency were found. Comparing the control and exposure conditions, formic acid exposure

has an additional effect on the subjective assessments of eye irritation, which is not seen to the same extent in the eyelid closures.

1 Problemstellung

Im Rahmen der bisher durch die DGUV geförderten Projekte der koordinierten Reizstoff-Forschung am IPA und IfADo wurden acht Arbeitsstoffe (zum Teil mehrfach) im Expositionslabor (ExpoLab) untersucht, um Humandaten für Dosis-Wirkungs-Beziehungen und damit eine „No Observed Adverse Effect Concentration“ (NOAEC) für die Ableitung bzw. Überprüfung von Arbeitsplatzgrenzwerten (AGWs) bereit zu stellen. Bei der Ableitung von AGWs oder MAK-Werten sind für den Endpunkt der sensorischen Irritationen derartige Studien äußerst relevant, da aktuell ohne weitere Extrapolationsschritte auf die Ergebnisse zurückgegriffen wird. Ihre Bedeutung wurde unlängst im Positionspapier „Relevanz von Humanstudien für die Ableitung von Arbeitsplatzgrenzwerten“ der DFG (siehe https://www.dfg.de/dfg_profil/gremien/senat/arbeitsstoffe/ergebnisse/index.html)

beschrieben. Trotz dieser hervorragenden Übertragbarkeit von experimentellen Studienergebnissen in die Grenzwertsetzung und damit die betriebliche Praxis sind einige Aspekte, die für das Übertragen auf die reale Arbeitsplatzsituation und die Verallgemeinerung der Ergebnisse notwendig sind, nicht ausreichend untersucht. Daher bestehen gewisse Unsicherheiten bei der Übertragung und die Module dieses Forschungsvorhabens widmen sich nun gezielt einigen dieser Faktoren. Es werden Studienergebnisse bereitgestellt, die diese Unsicherheiten reduzieren können.

2 Forschungszweck/-ziel

In experimentellen Humanstudien können immer nur eine begrenzte Zahl an Freiwilligen untersucht werden, die in der Regel jung und gesund sind. Daher stellt sich bei der Verallgemeinerung der Ergebnisse aus diesen Studien häufig die Frage, ob auch Personen, die durch bestimmte Prädispositionen oder Vorerkrankungen möglicherweise empfindlicher auf Reizstoffe reagieren, ebenfalls ausreichend vor adversen Effekten geschützt sind. Relevante Vorerkrankungen, die in diesem Zusammenhang eine Rolle spielen, sind Sensibilisierungen gegenüber Umweltallergenen, vor allem Pollen, die zu einer Sensibilisierung der oberen Atemwege und der Konjunktiva führen. „Heuschnupfenallergiker*innen“ als potenziell empfindliche Untergruppe wurden durch unsere Arbeitsgruppe bereits untersucht und in unseren Berichten und einer wissenschaftlichen Publikation (Pacharra et al. 2017) konnten wir zeigen, dass bei akuter Exposition gegenüber Ammoniak in Höhe des MAK-Wertes von 20 ppm

eine IgE-bestätigte Sensibilisierung gegenüber Pollen nicht zu stärkeren Reaktionen führte. Im Modul „Sensibilisierung“ soll dieser Untersuchungsansatz mit dem Arbeitsstoff Ameisensäure wiederholt werden. Basierend auf diesen Ergebnissen können Empfehlungen im Hinblick darauf abgeleitet werden, ob eine erhöhte Empfindlichkeit allergischer Personen für sensorische Irritationen vorliegt und dieser Faktor ggf. bei der Grenzwertableitung berücksichtigt werden muss.

Viele experimentelle Expositionsstudien zum Endpunkt *sensorische Irritationen* exponieren die Freiwilligen „in Ruhe“, d. h. ohne körperliche Belastung, die das Atemminutenvolumen erhöhen würde. Bei Arbeitsstoffen, die systemische Effekte oder Effekte an der Lunge auslösen, wird auf das erhöhte Atemvolumen von Arbeitenden bereits extrapoliert (Hartwig and MAK-Kommission 2017), wenn ein „no observed adverse effect level“ (NOAEL) aus Humanstudien abgeleitet wurde, die Personen nur in Ruhe exponiert haben. Die so gewonnene NOAEL wird durch den Faktor zwei geteilt, um einen MAK-Wert abzuleiten. Bei sensorischen Irritationen handelt es sich um einen lokalen Effekt, der hauptsächlich durch die Konzentration eines Arbeitsstoffes ausgelöst wird, der mit den Chemorezeptoren der Schleimhäute in den oberen Atemwegen und den Konjunktiven interagiert. Zu Beginn des Forschungsvorhabens bestanden Unsicherheiten, ob sensorische Irritationen, die in Humanstudien auf den Ebenen Erleben, Verhalten und Physiologie erfasst werden können, ebenfalls durch „körperliche Arbeit“ und die damit einhergehende Erhöhung des Atemminutenvolumens verstärkt werden. Im Modul „Körperliche Arbeit“ wurde dieser Faktor systematisch untersucht und Methoden integriert, die auch Effekte an den unteren Atemwegen erfassen. Auch die Ergebnisse dieses Moduls erweitern den wissenschaftlichen Kenntnisstand darüber, ob bei der Grenzwertableitung für sensorische Irritationen ein entsprechender Faktor berücksichtigt werden muss.

Ein letzter Faktor, der bei der Beantragung dieses Forschungsprojekts als Defizit in der wissenschaftlichen Literatur identifiziert wurde, ist die Interaktion von Konzentrationsspitzen und Expositionsdauer, da bei Proband*innenstudien in der Regel nur 2- bis 4-stündige Expositionszeiträume untersucht und Konzentrationsspitzen häufig nicht systematisch variiert werden. Eigene Studien (Kiesswetter et al. 2005; Kleinbeck et al. 2017) und Übersichtsarbeiten (Shusterman et al. 2006) zeigen, dass Expositionen mit Konzentrationsspitzen stärkere sensorische Irritationen auslösen als vergleichbare Expositionen, die keine

Konzentrationsspitzen aufwiesen. Die genaue Kenntnis über die Einflüsse von Konzentration (c) und Dauer (t) auf die Schwere messbarer sensorischer Irritationen ist zwingend erforderlich, da nur so aus kürzeren Expositionsstudien auf die 8-stündige Arbeitsschicht ohne Unsicherheiten extrapoliert werden kann. Im Modul „Akute Effektverläufe“ werden unterschiedliche Expositionsszenarien von 4- bis 6-stündiger Dauer und der maximalen Anzahl von 4 Expositionsspitzen/ Szenario (gemäß Abschnitt VI. der MAK- und BAT-Werte-Liste) systematisch variiert, um mögliche Effektverstärkungen durch die Dauer oder die Konzentration voneinander zu trennen. Auch aus diesem Modul sind wissenschaftliche Erkenntnisse zu erwarten, die verdeutlichen, ob bei der Grenzwertableitung für sensorische Irritationen ein Zeitextrapolationsfaktor erforderlich ist oder ob die Stärke des Effekts überwiegend durch die Konzentration bestimmt wird. In diesem Fall kann auch die NOEAC aus einer 4-stündigen Proband*innenstudie direkt zur Grenzwertableitung genutzt werden.

3 Methodik

3.1 Vergleichende Ergebnisübersicht

In dieser Gesamtschau ist es erstmals möglich, die Ergebnisse von vier experimentellen Human-Expositionsstudien, die im Rahmen des Forschungsprojekts 0399 (Irritative Effekte IV) von der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung (DGUV) gefördert wurden, zusammengefasst zu betrachten. Alle vier Experimente wurden im Zeitraum vom 1.6.2016 - 31.10.2021 durchgeführt und untersuchten den arbeitsplatzrelevanten Gefahrstoff Ameisensäure. Im letzten Nachtrag zur Begründung des MAK-Wertes der Ameisensäure steht explizit in der Bewertung „... Absicherung durch Erfahrungen beim Menschen ist weiterhin dringend erforderlich“ (MAK-Kommission 2012).

Das Forschungsprojekt besteht, wie eingangs erläutert, aus drei Modulen („Sensibilisierung“, „körperliche Arbeit“ und „Akute Effektverläufe“), in denen Experimente mit den entsprechenden Zielrichtungen durchgeführt wurden. In enger Abstimmung mit dem Forschungsbegleitkreis wurde in den vier experimentellen Expositionsstudien aus den drei Modulen Ameisensäure als Reizstoff untersucht. Auswirkungen unterschiedlicher Expositionsbedingungen (mit vs. ohne körperliche Arbeit, unterschiedliche Konzentrationsverläufe) und von unterschiedlich ausgeprägten körperlichen Voraussetzungen (Sensibilisierungen/ Allergie) können daher für Ameisensäure verglichen

und eingeordnet werden. Diese komparative Gesamtschau ersetzt, ebenfalls in Abstimmung mit dem Forschungsbegleitkreis, den letzten Zwischenbericht des Forschungsvorhabens und dient, gemeinsam mit den vier Zwischenberichten, als Abschlussbericht des Forschungsprojekts.

Die Analyse des subjektiven Erlebens nimmt in dieser komparativen Gesamtschau den größten Raum ein. Das hat einerseits damit zu tun, dass die Erlebensdaten in der höchsten zeitlichen Auflösung erfasst werden können (mehrfach pro Versuchstag). Andererseits haben die durch die DGUV geförderten Projekte dieser Arbeitsgruppe gezeigt, dass subjektive Empfindungen in jedem Experiment deutlich zwischen Expositions- und Kontrollbedingung unterscheiden und unterschiedliche Expositionsbedingungen differenzieren konnten (z.B. Acetaldehyd und Ethylacrylat in vier Expositions- und einer Kontrollbedingung; vgl. FP-0267). Am Beispiel Ethylacrylat zeigte sich ebenfalls, dass subjektiven Einschätzungen sogar zwischen einer dosisabhängigen subjektiven Wirkung und einer akut konzentrationsabhängigen subjektiven Wirkung unterscheiden können: Einschätzungen bei variablen Konzentrationsverläufen (mit Expositionsspitzen) waren sich trotz unterschiedlicher Schichtmittelwerte (2,5 ppm ; 0-5 ppm und 5 ppm; 0-10 ppm) ähnlicher, als Einschätzungen der jeweils vergleichbaren Schichtmittelwerte (2,5 ppm und 5 ppm) in konstanter Exposition. Die Einschätzungen waren bei den Bedingungen mit Expositionsspitzen auch höher als bei entsprechenden Bedingungen in konstanter Exposition. Zeitverläufe subjektiver Einschätzungen können somit Indizien für physiologische Prozesse am Rezeptor (Anpassungsprozesse bei olfaktorischen Einschätzungen; ggf. zeitliche Kumulation bei trigeminalen Einschätzungen) liefern, die diesen subjektiven Wahrnehmungen zugrunde liegen. Aufgrund des hohen Auswertungsaufwands und der Notwendigkeit eines bestimmten Kontexts (visuelle Aufgabe) bei der Messung der Lidschlussfrequenz, ist diese Messung auf besonders interessante Zeitpunkte der Exposition beschränkt (vor allem aufsteigende Konzentrationsflanken zu Beginn und zum Ende der Exposition) und damit zeitlich geringer aufgelöst. Lidschlussfrequenzen liefern allerdings direkte Messungen expositionsbedingter physiologischer Veränderungen. Die restlichen eingesetzten physiologischen Messungen (Rhinomano- und Rhinometrie, FeNO, nasale Lavage) sind in dieser hohen zeitlichen Auflösung während eines Experiments nicht möglich, da diese Messungen nur bei jeweils einer Person gleichzeitig durchgeführt werden können und zeitintensiver sind als die subjektiven Einschätzungen. Sie werden vor- und nach einer Exposition durchgeführt und können so nur persistierende Effekte der Exposition erfassen. Die

physiologischen Messungen sind dennoch essentiell, weil sie physiologische Veränderungen durch die Exposition direkt und objektiv erfassen. Auf eine Darstellung expositionsabhängiger Einflüsse auf behaviorale Tests wird verzichtet, da diese Größe in den durch die DGUV geförderten Experimenten dieser Arbeitsgruppe bislang expositionsunabhängig war und in den Zwischenberichten hinlänglich dargestellt ist.

3.2 Gemeinsamkeiten und Unterschiede der Experimente

In allen Experimenten wurde der gesetzliche Grenzwert der Ameisensäureexposition für Arbeitsplätze (5 ppm im Schichtmittelwert) zu keinem Zeitpunkt überschritten. Spitzenkonzentrationen von 10 ppm lässt die vorgeschriebene maximale Arbeitsplatzkonzentration zu (Spitzenbegrenzungsfaktor 2). Maximal 4 Spitzen pro Schicht (8h) müssen einen zeitlichen Abstand von mindestens einer Stunde haben und der Schichtmittelwert (5 ppm Ameisensäure) darf nicht überschritten werden ([MAK- und BAT-Werte-Liste 2021](#)). In den Experimenten gibt es daher immer eine Bedingung, die dem Grenzwert entspricht und somit in gewisser Weise den „Worst case“ der an Arbeitsplätzen zulässigen Exposition simuliert (0-10 ppm Ameisensäure). Außerdem gibt es in jedem Experiment eine Kontrollbedingung mit Reinluft (0 ppm Ameisensäure), die eine Baseline-Abschätzung der konstanten Kontext-/Umgebungseinflüsse ermöglicht. Genaue Beschreibungen des Designs und der Durchführung finden sich in den Zwischenberichten des Forschungsvorhabens, die diesen Abschlussbericht ergänzen. Aufgrund der unterschiedlichen Zielrichtungen der Module des Forschungsprojekts gibt es Gemeinsamkeiten aber auch Unterschiede zwischen den Experimenten. Tabelle 1 zeigt die potentiellen Einflüsse von (a) Merkmalen der Exposition (experimentelle Variation) und (b) organisatorischen Merkmalen (Kontexteinflüsse). Die Experimente sind in der Tabelle 1 folgendermaßen kodiert:

- Modul „Sensibilisierung“: Experiment „Sensibilisierung“
- Modul „Körperliche Arbeit“: Experiment „Körperliche Arbeit“
- Modul „Akute Effektverläufe“: Experiment „Akute Effektverläufe 3+3“ und Experiment „Akute Effektverläufe 4+2“

Aufgrund der Corona-Pandemie mussten organisatorische Änderungen für das Experiment „Akute Effektverläufe 4+2“ vorgenommen werden. Im Labor wurden Trennvorhänge installiert, da bei einer ökonomisch sinnvollen Besetzung des Labors (4 Personen) der

Mindestabstand nicht eingehalten werden konnte. Durch diese Trennvorhänge wurde das durch die Vertikalbelüftung im Labor ohnehin geringe Risiko einer viralen Ansteckung zusätzlich reduziert. Beim Betreten des Labors trugen die Versuchspersonen einen (von der Arbeitsgruppe gestellten) medizinischen Mund-Nasen-Schutz (FFP-2). Sobald sie ihren Platz erreicht hatten, haben die Versuchspersonen den Trennvorhang geschlossen und den Mund-Nasen-Schutz abgesetzt. Beim Aufsuchen der Toilette im Eingangsbereich des Labors musste der Mund-Nasen-Schutz von allen beteiligten Personen wieder angelegt werden. Während die Trennvorhänge die Verteilung und Konzentration von Ameisensäure (Vertikalbelüftung/Messstelle an jedem der vier Arbeitsplätze) nicht beeinträchtigen, ist unklar, ob das kurzzeitige Tragen des Mund-Nasen-Schutzes einen Einfluss auf die Wahrnehmung der Ameisensäure hat (Filterwirkung Ameisensäure?). Aufgrund der Corona-Pandemie konnte das Experiment des Jahres 2020 nicht wie geplant stattfinden (Februar und März 2020), sondern musste verschoben werden (Durchführung Juni und Juli 2020). Daher ist die Temperatur (Umgebungseinfluss) im Labor bei diesem Experiment um ca. 1,5°C höher als bei den anderen Experimenten, die im März/April/Mai bzw. Oktober/November/Dezember durchgeführt werden. Die Temperatur hat keinen Einfluss auf die Konzentration von Ameisensäure (vgl. Abb. 1). Ob sie einen Einfluss auf die Wahrnehmung von Ameisensäure hat, ist unklar.

Tabelle 1 (a) Relevante Merkmale der Exposition (experimentelle Variation) bei den vier Ameisensäure-Experimenten

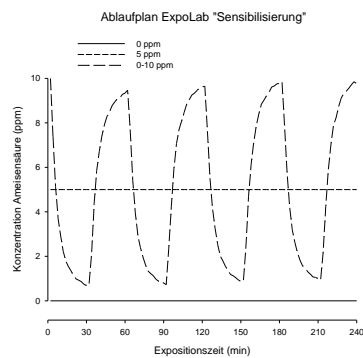
Einflussgröße	Exposition			Experiment
Konzentrationsverläufe	Szenario 1	Szenario 2	Szenario 3	
	0 ppm	5 ppm	0-10 ppm	„Sensibilisierung“
	0 ppm	-	0-10 ppm	„körperliche Arbeit“
	0 ppm / 0 ppm	5 ppm / 0-10 ppm	0-10 ppm / 5 ppm	„Akute Effektverläufe 3+3“
	0 ppm / 0 ppm	5 ppm / 5 ppm	0-10 ppm / 5 ppm	„Akute Effektverläufe 4+2“
Dauer	4h		„Sensibilisierung“, „körperliche Arbeit“	
	6h		3 h / 3 h	„Akute Effektverläufe 3+3“
			4 h / 2 h	„Akute Effektverläufe 4+2“

Tabelle 1 (b) Relevante Merkmale der Organisation (Kontextfaktoren) bei den vier Ameisensäure-Experimenten

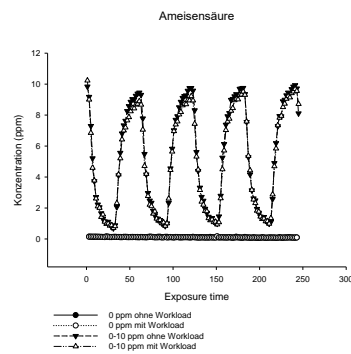
Einflussgröße	Organisation	Experiment
Behaviorale Aufgaben	2*Mackworth-Uhr („aufsteigende Flanke), 8*Arbeitsgedächtnis (n-back r, n-back o), 2*geteilte Aufmerksamkeit, 2*Flankierreiz	„Sensibilisierung“
	6*Arbeitsgedächtnis (2-back, 3-back Objekte)	„körperliche Arbeit“
	4*Mackworth-Uhr („absteigende Flanke“)	„Akute Effektverläufe 3+3“ „Akute Effektverläufe 4+2“
Körperliche Belastung	Ohne	„Sensibilisierung“ „körperliche Arbeit“ ¹
	4*30 min	„körperliche Arbeit“ ¹
	6*25 min	„Akute Effektverläufe 3+3“, „Akute Effektverläufe 4+2“
Allergie	Allergisch	„Sensibilisierung“
	nicht allergisch	„Sensibilisierung“
	Nicht berücksichtigt	„körperliche Arbeit“, „Akute Effektverläufe 3+3“, „Akute Effektverläufe 4+2“

¹ Körperliche Belastung /Workload ist im Experiment 2018 ein experimentell variiertes Merkmal; aus Gründen der Übersichtlichkeit wird er aber bei den Kontextfaktoren (doppelt) aufgeführt. Als Kontextfaktor fungiert körperliche Belastung bei den Experimenten „Akute Effektverläufe 3+3“ und „Akute Effektverläufe 4+2“

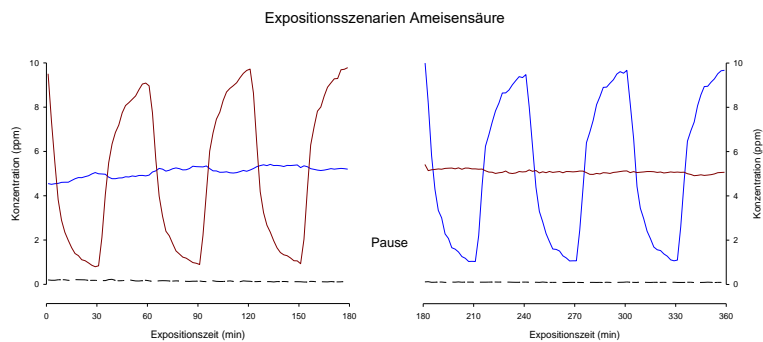
Experiment „Sensibilisierung“



Experiment „körperliche Arbeit“



Experiment „Akute Effektverläufe 3+3“



Experiment „Akute Effektverläufe 4+2“

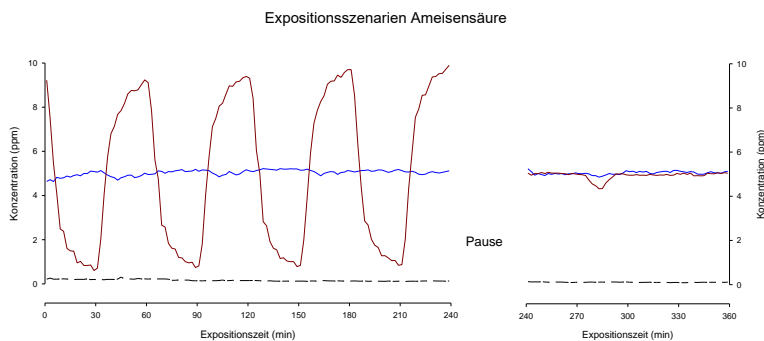


Abb. 1 Zusammenfassende Darstellung der mittleren Ameisensäure-Konzentrationen, die während der Expositionsszenarien der unterschiedlichen Experimente verwendet und chemisch-analytisch gemessen wurden

3.3 Eingesetzte Messmethoden

Tabelle 2 zeigt die eingesetzten Messmethoden auf den verschiedenen Messebenen für die unterschiedlichen Kompartimente, die von der Ameisensäure-Exposition betroffen sein können. Eine kurze Beschreibung der Messmethoden findet sich im Anhang (8.1 Messmethoden)

Tabelle 2 Eingesetzte Messmethoden für unterschiedliche Kompartimente

Kompartiment	Messebene		
	Physiologische Messung	Subjektive Einschätzung ²	Verhalten ³
Augen	Lidschlussfrequenz-Messung	Empfindensskalierung (LMS): Augenreizung Symptomangaben (SPES) ⁴ : okulare Symptome	
Obere Atemwege (Nase, Rachen)	Analyse der nasalen Lavage-Flüssigkeit: Substanz P, HMGB1, IL-10, TNF α Biochemische Indikatoren für neurogene und lokale Entzündungen	Empfindensskalierung (LMS): Geruchsintensität, Ekel, Lästigkeit, Niesreiz, Nasenreizung, Brennend, Stechend, Kitzelnd, Scharf, Prickelnd	Arbeitsgedächtnistest Test zur Geteilten Aufmerksamkeit Flankierreiz-Aufgabe Mackworth-Uhr Test
	Rhinometrie: morphologische Veränderungen der Nasenhaupthöhle		
	Rhinomanometrie: Änderung des Luftdurchsatzes der Nase durch Schwellungen der Schleimhäute	Symptomangaben (SPES): Olfaktorische Symptome nasale Symptome Irritation gustatorische Symptome	
	Atemfrequenz / -tiefe		
Mittlere und untere Atemwege	Fraktioniertes exhalierendes Stickoxid (FeNO): Indikator für inflammatorische Prozesse an den mittleren Atemwegen	Symptomangaben (SPES): respiratorische Symptome	
	Atemfrequenz / -tiefe		

² Zusätzlich zu den genannten Verfahren wird das allgemeine Befinden abgefragt („entspannt/angespannt“, „wach/müde“, „beschwerdefrei/Beschwerden“, „nicht lästig/lästig“)

³ Einflüsse aus allen Kompartimenten sind denkbar; eine Zuordnung zu Reizwirkungen eines Kompartiments zum Verhalten ist nicht per se möglich (korrelative Zusammenhänge zu anderen Messungen könnten Indizien für die Wirkung eines Kompartiments geben)

⁴ SPES fragt zusätzlich präanästhetische Symptome ab, die keinem Kompartiment zugeordnet werden können

Einige der verwendeten Verfahren wurden in allen Experimenten eingesetzt, andere nur in einzelnen Experimenten (vgl. Darstellung in den Zwischenberichten der Experimente).

3.4 Statistische Analysen

Die subjektiven Einschätzungen (Labeled Magnitude Scale, Swedish Performance Evaluation System, allgemeines Befinden; vgl. Tabelle 2) wurden während der Exposition in regelmäßigen Abständen durchgeführt. Für die gemeinsamen Analysen aller Versuchspersonen wurden für jede subjektive Einschätzung zunächst nur für die ersten drei Stunden der Exposition (kürzeste Expositionsdauer ohne Pause, vgl. Experiment „Akute Effektverläufe 3+3“) multivariate Varianzanalysen mit Messwiederholung (rmMANOVAs) für die Versuchspersonen aller Ameisensäure-Experimente (n=148) durchgeführt. Analysiert wurden der Einfluss der Exposition (Vergleich zwischen Kontrollbedingung (0 ppm) und Maximalexposition (0-10 ppm); Faktor Exposition: zweistufig) und der Einfluss der Expositionsdauer (Faktor Expositionsdauer, halbstündige Messungen: siebenstufig). Bei beiden Faktoren handelt es sich um Within-subject Faktoren.

In weiteren Analysen wurde der Einfluss des Experiments geprüft (vergleichende Analysen). Dazu wurden die im vorangegangenen Abschnitt beschriebenen Analysen um den Faktor Experiment („Sensibilisierung“, „körperliche Arbeit“, „Akute Effektverläufe 3+3“, „Akute Effektverläufe 4+2“: vierstufig, Between-subjects Faktor) erweitert. In der Ergebnisbeschreibung werden die beiden Stufen des Faktors Exposition für die subjektiven Bewertungen aus Gründen der Übersichtlichkeit getrennt dargestellt, für die physiologischen Messungen jedoch gemeinsam.

Die Daten zur Atemfrequenz aus den Experimenten „körperliche Arbeit“, „Akute Effektverläufe 3+3“ und „Akute Effektverläufe 4+2“ wurden in einer rmANOVA zusammen analysiert, um zum einen Experiment-übergreifende Resultate zum Einfluss von Ergometerbelastung und Exposition zu erhalten und zum anderen den Einfluss des Faktors Experiment zu prüfen.

Die Informationen zur Atemtiefe aus den Experimenten „Akute Effektverläufe 3+3“ und „Akute Effektverläufe 4+2“ wurden zusammengefasst und in dieser Form deskriptiv ausgewertet.

Die Messungen zur Lidschlussfrequenz wurden zunächst Experiment-übergreifend dargestellt und einem visuellen, deskriptiven Vergleich unterzogen. Eine gemeinsame Auswertung der Lidschlussdaten aller Experimente ist auf Grund von statistischen Besonderheiten der Daten nur eingeschränkt möglich und nur in einer erheblich vergrößerten Art durchführbar. Es wurden für die alle vier Experimente zusammenfassende Analyse nur der jeweils erste und letzte Erfassungsbereich (25 – 30 min) der Lidschlussfrequenz an einem Versuchstag verwendet und dabei die Daten aus einem 5-min-Intervall zu Beginn und zum Ende eines solchen Bereiches betrachtet (vgl. zu diesen 5-min-Intervallen auch die entsprechenden Zwischenberichte). So können die Kontrollbedingungen der Experimente (0 ppm) mit den Ameisensäurebedingungen (0 - 10 ppm plus Konstantexpositionen mit 5 ppm am Nachmittag bei den 6-stündigen Experimenten in „Akute Effektverläufe 3+3“ und „Akute Effektverläufe 4+2“) verglichen werden. Die 4- und 6-stündigen Experimente wurden dabei nicht getrennt betrachtet und beim Experiment „körperliche Arbeit“ wurden nur die Tage unter Ergometerbelastung (experimentelle Variation) einbezogen. Das statistische Modell ist eine rmANOVA mit den Faktoren Exposition, Erfassungsbereich, 5-min-Intervall (Wiederholungsfaktoren, zweistufig) und Experiment und Geschlecht (Zwischensubjektfaktoren, vier-/ zweistufig).

Bei den weiteren vergleichenden Betrachtungen der Experimente wurden für die Lidschlussfrequenz jeweils Teilmengen der insgesamt vier Experimente gebildet, um die Einflüsse der über die Exposition hinausgehenden Einflussfaktoren statistisch erfassen und beurteilen zu können. Die statistischen Modelle waren rmANOVA mit den Faktoren Exposition, Erfassungsbereich, 5-min-Intervall (Wiederholungsfaktoren, zweistufig) und Experiment und Geschlecht (Zwischensubjektfaktoren, zweistufig).

Die Kennwerte der Rhinometrie (MCA1, MCA2, Volumen 1 und Volumen 2; vgl. 8.1.1 Physiologische Methoden), Rhinomanometrie (nasaler Flow), biochemische Indikatoren in der **nasalen Lavage Flüssigkeit (NALF)** und FeNO-Messungen wurden auf Einflüsse der Exposition (Vergleich zwischen Kontrollbedingung (0 ppm) und Maximalexposition (0-10 ppm); Faktor Exposition: zweistufig) und des Messzeitpunkts (vor bzw. nach der Exposition: zweistufig) untersucht. Dazu wurden multivariate Varianzanalysen mit Messwiederholung (rmMANOVA) für die Versuchspersonen aller Ameisensäure-Experimente (n=148) durchgeführt.

In weiteren Analysen wurde der Einfluss des Experiments geprüft. Dazu wurden die im vorangegangenen Abschnitt beschriebenen Analysen um den Faktor Experiment („Sensibilisierung“, „körperliche Arbeit“, „Akute Effektverläufe 3+3“, „Akute Effektverläufe 4+2“: vierstufig, Between-subjects Faktor) erweitert. Im Falle der FeNO-Messung wurde zusätzlich auch der Faktor körperliche Arbeit (mit (n=55) oder ohne (n=59) körperliche Arbeit) in eine Analyse der Faktoren Exposition und Messzeitpunkt einbezogen (Experiment „körperliche Arbeit“ konnte in dieser Analyse nicht berücksichtigt werden, da der Faktor „körperliche Arbeit“ hier als Within-subjects Faktor/Innersubjektfaktor berücksichtigt ist).

4 Ergebnisse des Gesamtvorhabens

Die jeweiligen Ergebnisse der einzelnen Module wurden in den vier Zwischenberichten eingehend und vollständig⁵ beschrieben (eine Übersicht ausgewählter Ergebnisse findet sich im Anhang „8.3 Übersicht ausgewählter, signifikanter Effekte in den Einzelexperimenten“). Daher konzentriert sich die Ergebnisdarstellung des Abschlussberichtes vor allem auf die zusammenfassende Betrachtung der durchgeführten Experimente.

4.1 Gemeinsame Betrachtung aller Versuchspersonen der vier Experimente

4.1.1 Subjektive Einschätzungen (zusammenfassende Auswertung)

Es wurden verschiedene Skalen für die subjektiven Einschätzungen der Auswirkungen von Ameisensäure eingesetzt:

- Labeled Magnitude Scale (LMS)
- Swedish Performance Evaluation Scale (SPES)
- Befindensskalierung

LMS. Mit Hilfe der Labeled Magnitude Scale (LMS; Green et al. 1996) gaben die Versuchspersonen regelmäßige Einschätzungen über die Stärke unterschiedlicher Wahrnehmungsqualitäten (vgl. Laska et al. 1997) von Ameisensäure an: Geruchsintensität, Lästigkeit und Ekel als **olfaktorische Wahrnehmungen**, Stechend, Nasenreizung,

⁵ Der 2. Zwischenbericht vom 30.06.2018 und der 4. Zwischenbericht vom 31.10.2020 wurden um die fehlenden Proband*innen des jeweiligen Untersuchungsteils von Herbst 2018 und Frühjahr 2021 ergänzt.

Augenreizung, Brennend, Scharf, Kitzelnd, Prickelnd und Niesreiz als **trigeminale Wahrnehmungen**.

SPES. Mit Hilfe der Swedish Performance Evaluation Scale (SPES; Iregren 1998) gaben die Versuchspersonen regelmäßige Einschätzungen über die Stärke unterschiedlicher akuter Symptome aus den folgenden Bereichen Pränarkotische Symptome, olfaktorische Symptome, gustatorische Symptome, respiratorische Symptome, Irritation, nasale Symptome und okulare Symptome, an.

Befindensskalierung. Skalierungen zum allgemeinen Befinden werden mit Hilfe von Gegensatzpaaren (entspannt vs. angespannt, wach vs. müde, beschwerdefrei vs. starke Beschwerden, nicht lästig vs. lästig) auf einer 7-stufigen Skala durchgeführt (Seeber et al. 1997).

In den 3- bzw. 4-stündigen (ersten) Expositionsabschnitten (vgl. Tabelle 1 und Abb. 1) sollten die subjektiven Einschätzungen immer in Konzentrationsspitzen und -tälern stattfinden, also sofort nach Betreten des Labors und dann in 30-minütigen Abständen. Durch organisatorische Unterschiede der vier Experimente konnten nicht alle Ratings immer zu exakt gleichen Zeitpunkten stattfinden. Abb. 2 zeigt den mittleren Konzentrationsverlauf der Experimente in den ersten 3 Expositionsstunden zusammen mit den unterschiedlichen Ratingzeiträumen (mittlerer frühester Zeitpunkt des Geruchsintensitätsratings (F) und mittlerer spätester Zeitpunkt des Geruchsintensitätsratings (S) der vier Experimente) beispielhaft für die Einschätzung der LMS.

Mittlerer Konzentrationsverlauf

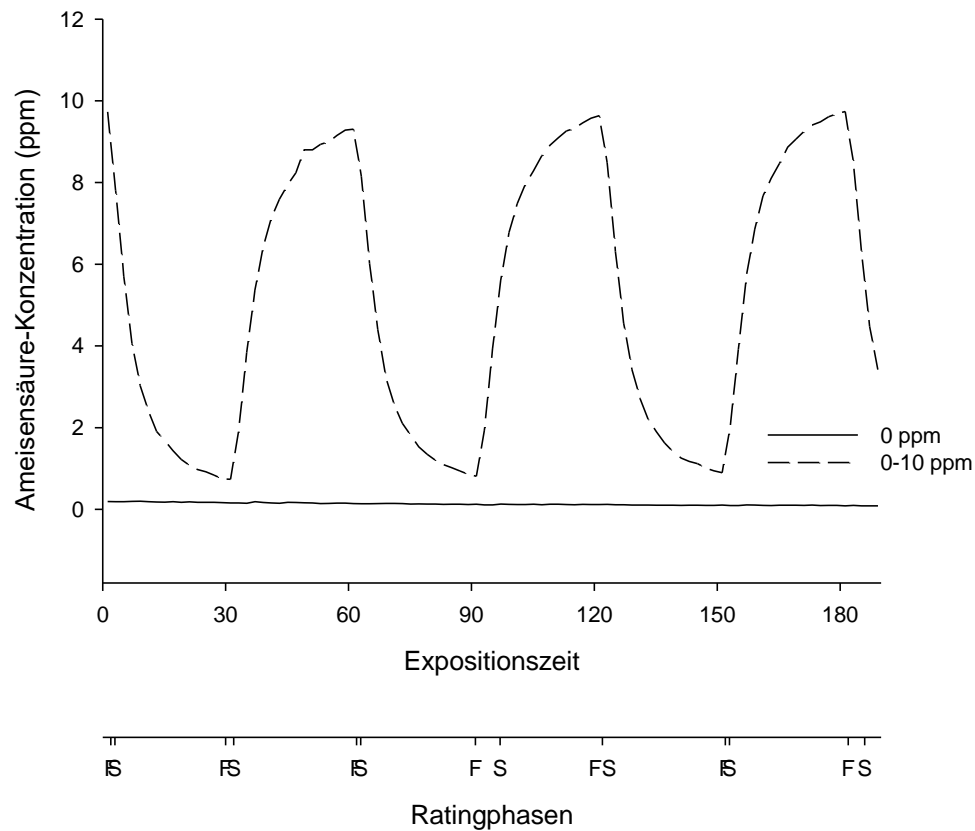


Abb. 2 Mittlerer Konzentrationsverlauf der Experimente und Ratingphasen; F steht für die früheste durchschnittliche Ratingzeit von Geruchsintensität, S steht für die späteste durchschnittliche Ratingzeit von Geruchsintensität

Für die meisten Ratingphasen liegen die Skalierungen nah beieinander, lediglich bei den Ratings im Zeitfenster um 90 Minuten Exposition ist die Spanne etwas größer (die Skalierung im Experiment „Sensibilisierung“ und Experiment „körperliche Arbeit“ ist etwas später, schon bei zunehmender Ameisensäurekonzentration). Trotz des einzelnen etwas breiteren Zeitfensters werden die Messzeitpunkte der ersten drei Stunden aller Experimente in den folgenden Analysen gleichwertig behandelt.

Es gehen 4 Experimente mit insgesamt 148 Proband*innen in die Analyse ein (vgl. Tabelle 3). Im Experiment „Sensibilisierung“ wurden Allergiker mit Kontrollproband*innen (Between-subjects Faktor) verglichen. In die Gesamtanalyse gehen beide Gruppen ein. Im Experiment „körperliche Arbeit“ wurde körperliche Arbeit als Within-subjects Faktor untersucht. Um das Experiment zu repräsentieren, wird pro Person der Mittelwert aus den beiden

Belastungsbedingungen (ohne und mit) berücksichtigt, da die Analyse eine doppelte Berücksichtigung der gleichen Proband*innen nicht zulässt.

Tabelle 3 Anzahl der Proband*innen der analysierten Experimente

Experiment	Anzahl Proband*innen	♀ / ♂
„Sensibilisierung“	22 Allergiker*innen	14 / 8
	34 Kontrollproband*innen	19 / 15
„körperliche Arbeit“	32	22 / 10
„Akute Effektverläufe 3+3“	30	15 / 15
„Akute Effektverläufe 4+2“	30	18 / 12

4.1.1.1 Labeled Magnitude Scale (LMS)

Betrachtet man Kontroll- und Expositionsbedingung während der sieben ersten Messzeitpunkte aller vier Ameisensäure-Experimente ohne Berücksichtigung der modulierenden Faktoren für alle LMS-Ratings (rmMANOVA), so sieht man, dass beide getesteten Faktoren (Exposition und Expositionsdauer) und deren Interaktion multivariat (Exposition $F_{(11,137)} = 19,7$; $p \leq ,0001$; partielles $\eta^2 = 0,61$; Expositionsdauer $F_{(66,82)} = 3,7$; $p \leq 0,001$; partielles $\eta^2 = 0,75$; Interaktion $F_{(66,82)} = 3,2$, $p \leq 0,001$; partielles $\eta^2 = 0,72$) und univariat signifikant (alle $F > 5,4$; alle $p \leq 0,001$) sind.

Die Einschätzung aller LMS-Ratings ist in der Kontrollbedingung sehr gering und in der Expositionsbedingung deutlich höher. Im Zeitverlauf der Expositionsbedingung sieht man bei den meisten LMS-Ratings (bis auf Augenreizung) deutlich eine Variation, die der Veränderung der Konzentration von Ameisensäure im Labor über die Zeit entspricht. In den Interaktionen sieht man, dass diese Variation über die Messzeitpunkte ausschließlich der Expositionsbedingung geschuldet ist. In der Kontrollbedingung gibt es diese Variation nicht, sie ist also ausschließlich auf Ameisensäureexposition zurückzuführen. Sieht man sich die Verläufe der Ratings auf den einzelnen Skalen während Expositionsbedingung (0-10 ppm) an, so ergeben sich unterschiedliche Verlaufsmuster (siehe Abb. 3).

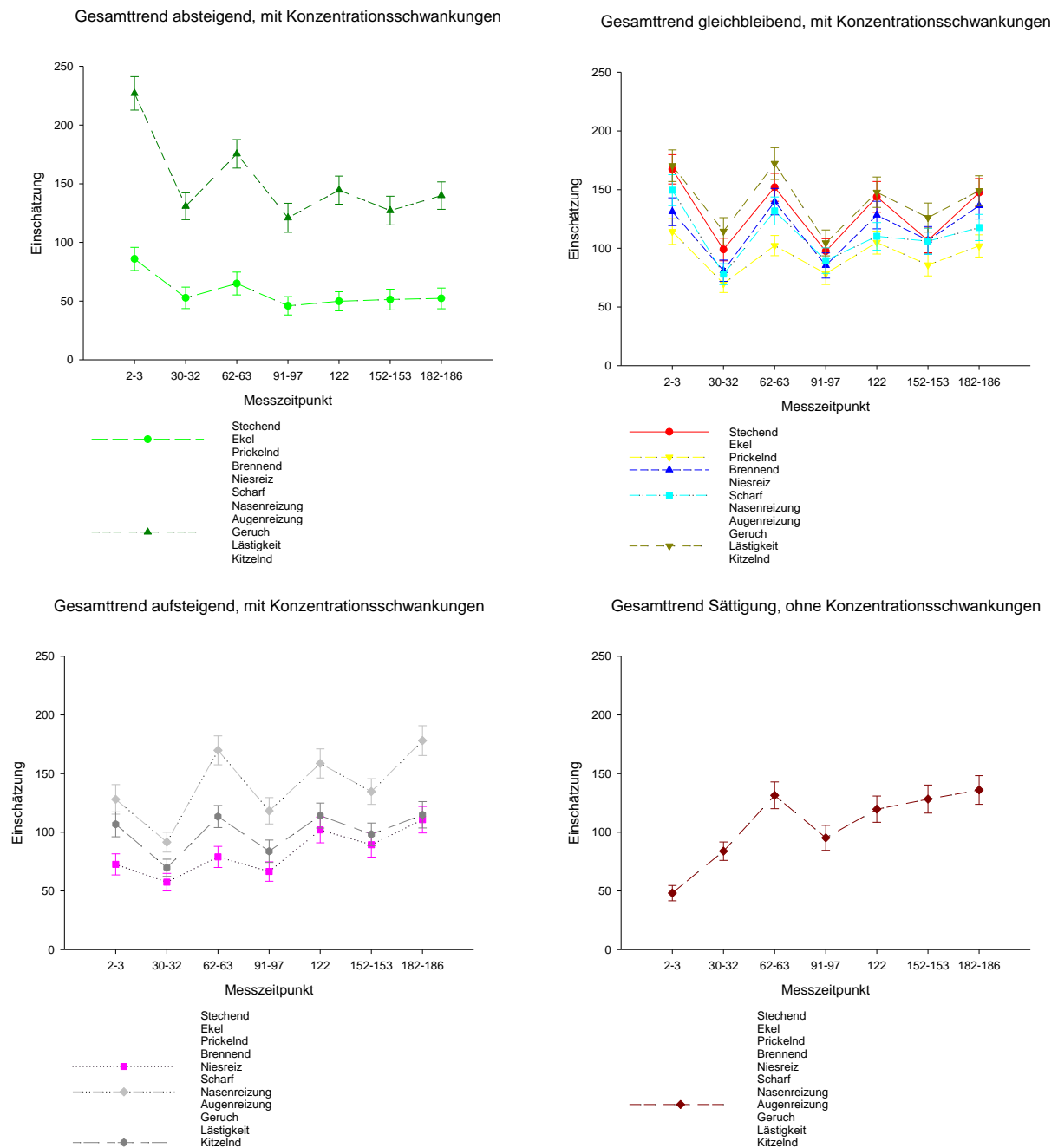


Abb. 3 Verlaufsmuster der LMS-Ratings (klassifiziert nach Gesamtrend und Konzentrationsschwankungen der Expositionsbedingung)

Die Zuordnung der Ratings zu den einzelnen Mustern erfolgt über die Klassifizierung unterschiedlicher zeitlicher Trends (vgl. Kleinbeck et al. 2017, 2020). Es handelt sich dabei einerseits um den Gesamtrend über die analysierte Expositionszeit (180 min; Gewöhnung, Erhöhung der Empfindlichkeit) und andererseits um kurzfristige Einflüsse der Konzentrationsschwankung (3 x über jeweils 60 min; vgl. Tabelle 4)

Tabelle 4 Zuordnung der LMS-Ratings zu unterschiedlichen zeitlichen Aspekten

		Konzentrationsschwankungen (3 x 60 min)	
		sichtbar	Nicht sichtbar
Gesamttrend (über 180 min)	Absteigend	Geruch, Ekel	
	Gleich	Stechend, prickelnd, brennend, scharf, Lästigkeit	
	Sättigung		Augenreizung
	Aufsteigend	Niesreiz, Nasenreizung, kitzelnd	

Bis auf die Augenreizung folgen alle Einschätzungen den Konzentrationsschwankungen (3 x 60 min). Im Hinblick auf den Zeittrend (180 min) sieht man bei Ekel- und Geruchseinschätzung eine Abnahme über die Zeit (Gewöhnung, Adaptation), einen Anstieg über die Zeit (Niesreiz, Nasenreizung, kitzelnd), einen Sättigungsanstieg (Augenreizung) und keinen Trend in dieser Auflösung (Stechend, prickelnd, brennend, scharf, Lästigkeit).

Eine Abnahme spiegelt eher Gewöhnungsprozesse wider und zeigt sich, wenig überraschend, bei olfaktorischen Einschätzungen. Ein Anstieg spricht für eine Erhöhung der Empfindlichkeit bei andauernder Exposition und ist nur bei trigeminalen Einschätzungen zu beobachten, die eine unspezifische Reizung der Nase beschreiben (Nasenreizung, Niesreiz, kitzelnd), während z.B. stechend und brennend unterschiedliche Qualitäten der Nasenreizung charakterisieren. Letztere Ratings zeigen keinen Zeittrend, wohl aber eine Berücksichtigung der Konzentrationsschwankungen. Hier gibt es offenbar keine zeitliche Anpassung, aber auch keine (sichtbare) Erhöhung der Empfindlichkeit. Interessanterweise zeigt auch die Einschätzung der Lästigkeit diesen Trend, die erfahrungsgemäß eher den olfaktorischen Einschätzungen folgt (Seeber et al. 2002). Im Sättigungstrend bei der Augenreizungseinschätzung zeigt sich zunächst ein Anstieg, der nach etwa 60 min in einen gleichbleibenden Zeitverlauf übergeht.

4.1.1.2 Swedish Performance Evaluation Scale (SPES)

Betrachtet man Kontroll- und Expositionsbedingung während der sieben ersten Messzeitpunkte aller vier Ameisensäure-Experimente ohne Berücksichtigung der

modulierenden Größen für alle SPES-Einschätzungen (rmMANOVA), so sieht man, dass beide getesteten Faktoren (Exposition und Expositionsdauer) und deren Interaktion multivariat (Exposition $F_{(7,141)} = 48,7$; $p \leq .001$; partielles $\eta^2 = 0,70$; Expositionsdauer $F_{(42,106)} = 13,3$; $p \leq 0,001$, partielles $\eta^2 = 0,84$; Interaktion $F_{(42,106)} = 8,1$; $p \leq 0,001$; partielles $\eta^2 = 0,76$) signifikant werden. In der univariaten Analyse wird der Faktor Exposition signifikant (alle $F > 16$; alle $p \leq 0,001$). Der Faktor Expositionsdauer wird bei fast allen Symptom-Einschätzungen (Ausnahme: respiratorische Symptome) signifikant (alle $F > 8$; alle $p \leq 0,001$). Die Interaktion zwischen den Faktoren Exposition und Expositionsdauer wird für olfaktorische ($F_{(6,882)} = 49,0$; $p \leq 0,001$), nasale ($F_{(6,882)} = 27,4$; $p \leq 0,001$) und okulare Symptome ($F_{(6,882)} = 6,8$, $p \leq 0,001$) signifikant.

Im Zeitverlauf der Expositionsbedingungen zeigen sich vergleichbare Muster wie bei den LMS-Einschätzungen (vgl. Tabelle 5).

Tabelle 5 Zuordnung der SPES-Einschätzungen zu unterschiedlichen zeitlichen Aspekten der Exposition

		Konzentrationsschwankungen (60 min)	
		sichtbar	Nicht sichtbar
Gesamttrend (über 180 min)	Absteigend	Olfaktorisch	
	Gleich		Respiratorisch
	Sättigung		Pränarkotisch, gustatorisch, Irritation, okular
	Aufsteigend	nasal	

Lediglich die Einschätzungen olfaktorischer und nasaler Symptome folgen den kurzfristigen Konzentrationsschwankungen (60 min). Wie die olfaktorischen Einschätzungen der LMS (vgl. Abb. 3) ist der Zeittrend (180 min) der olfaktorischen Symptome absteigend (siehe Abb. 4). Entsprechend der unspezifischen Nasenreizung bei den LMS-Ratings (vgl. Abb. 3) steigt die Einschätzung der nasalen Symptome über die Zeit an (siehe Abb. 4). Die restlichen Symptom-Angaben (u.a. okulare Symptome) entsprechen im Zeitverlauf dem LMS-Rating der Augenreizung: ansteigend (Tendenz zur Sättigung) mit einer Delle bei der 4. Messung (90 min; siehe Abb. 4).

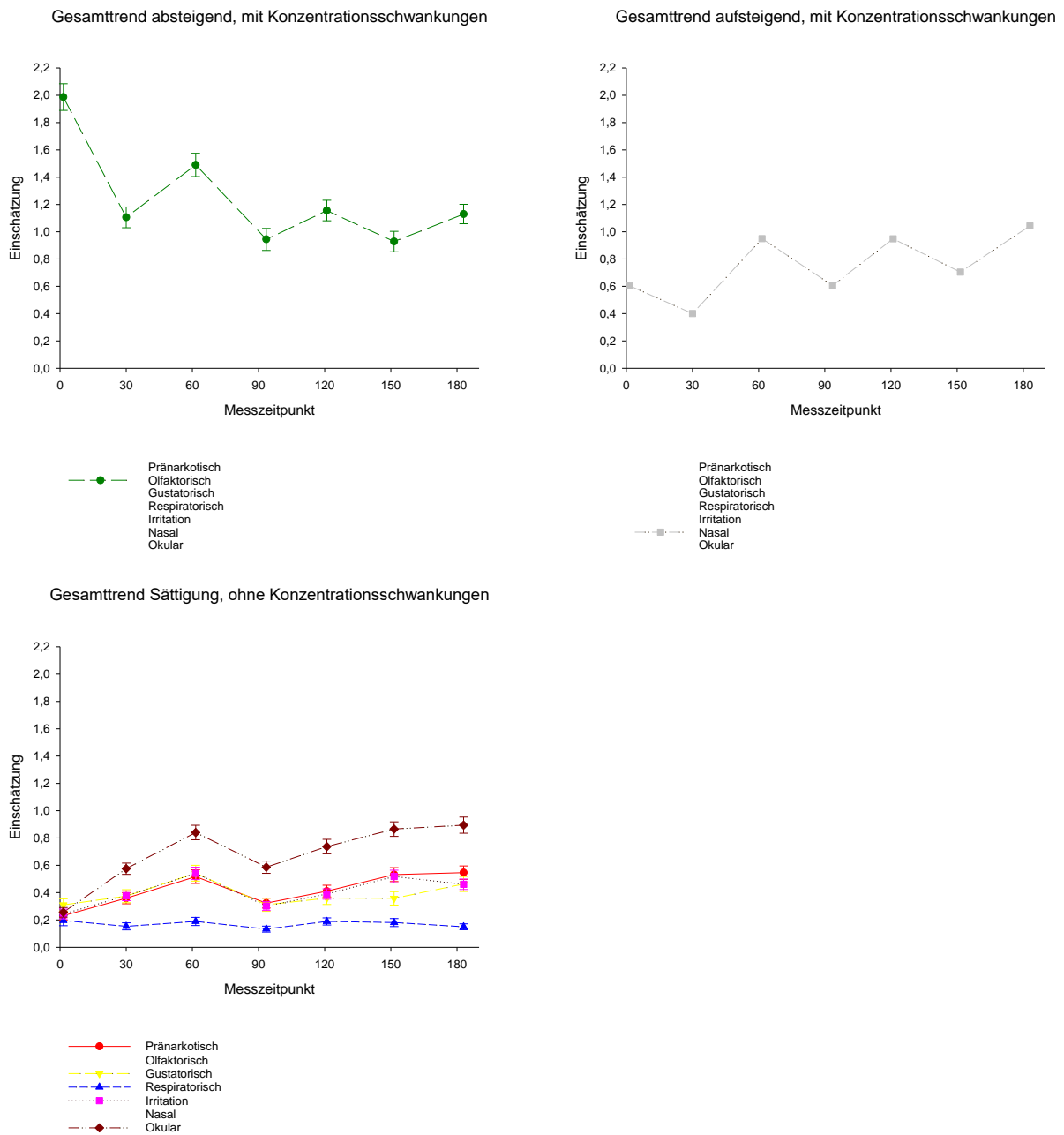


Abb. 4 Verlaufsmuster der SPES-Einschätzungen (klassifiziert nach Gesamttrend und Konzentrationsschwankungen; vgl. Tabelle 5) in der Expositionsbedingung

4.1.1.3 Befindensskalierung

Betrachtet man Kontroll- und Expositionsbedingung während der sieben ersten Messzeitpunkte aller vier Ameisensäure-Experimente ohne Berücksichtigung der modulierenden Größen für alle Befindens-Angaben (rmMANOVA), so sieht man, dass beide getesteten Faktoren (Exposition und Expositionsdauer) und deren Interaktion multivariat (Exposition $F_{(4,144)} = 36,2$; $p \leq 0,001$; partielles $\eta^2 = 0,50$; Expositionsdauer $F_{(24,124)} = 23,4$; $p \leq 0,001$; partielles $\eta^2 = 0,82$; Interaktion $F_{(24,124)} = 3,1$; $p \leq 0,001$, partielles $\eta^2 = 0,38$)

signifikant werden. Der Faktor Exposition wird in der univariaten Auswertung bei allen Befindensangaben außer wach/müde signifikant (alle $F > 24$; alle $p \leq 0,001$). Der Faktor Expositionsdauer hingegen wird bei allen Befindensangaben signifikant (alle $F > 12$; alle $p \leq 0,001$). Die Interaktion der beiden Faktoren wird nur für nicht lästig / lästig signifikant ($F_{(6,1074)} = 11,0$; $p \leq 0,001$).

Die Einschätzungen der Müdigkeit sind für Kontroll- und Expositionsbedingung nahezu identisch. Sie geben daher Aufschluss allein über den Einfluss von Kontext-/Umgebungsfaktoren. Im Zeitverlauf der Expositionsbedingung sieht man lediglich bei der Einschätzung von nicht lästig / lästig einen Zeitverlauf, der die Konzentrationsschwankungen berücksichtigt (siehe Abb. 5). Er ähnelt der LMS-Einschätzung Lästigkeit (vgl. Abb. 3).

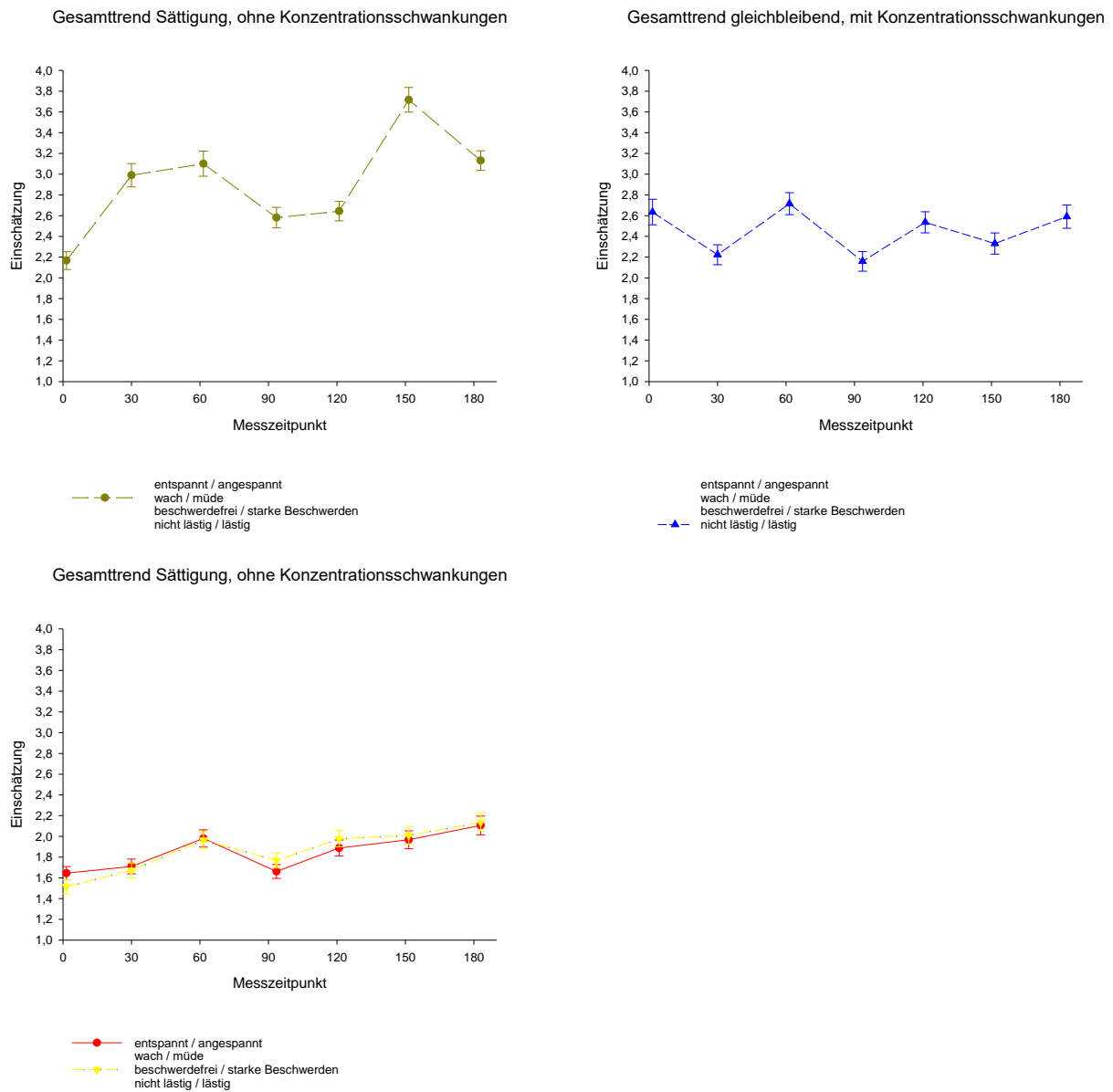


Abb. 5 Verlaufsmuster der Befindenseinschätzungen (klassifiziert nach Gesamtrend und Konzentrationsschwankungen; vgl. Tabelle 5 in der Expositionsbedingung)

Es zeigen sich im Wesentlichen vier unterschiedliche Muster bei LMS-Ratings, Symptom-Angaben und Empfindungseinschätzungen (vgl. Tabelle 6).

Tabelle 6 Zuordnung der LMS-Ratings (blau), Symptom-Angaben (schwarz) und Befindens-Einschätzungen (grün) zu unterschiedlichen zeitlichen Aspekten der Exposition

		Konzentrationschwankungen (60 min)	
		sichtbar	Nicht sichtbar
	Absteigend	Geruch, Ekel, olfaktorische Symptome	
	Gleich	Stechend, prickelnd, brennend, scharf Lästigkeit, nicht lästig / lästig	respiratorische Symptome
Gesamttrend (über 180 min)	Sättigung (mit Delle)		Augenreizung, prä-narkotische, gustatorische, okulare Symptome, wach/müde, entspannt / angespannt; beschwerdefrei / starke Beschwerden
	Aufsteigend	Niesreiz, Nasenreizung, kitzelnd, nasale Symptome	

4.1.2 Fazit der gemeinsamen Betrachtung der subjektiven Einschätzungen aller Versuchspersonen

Olfaktorische Einschätzungen zeichnen sich durch einen zeitlich absteigenden Trend über die Zeit aus, der Konzentrationschwankungen berücksichtigt. Die Vermutung ist, dass über 180 min Exposition ein Gewöhnungsprozess stattfindet. Gleichzeitig könnten im 60-minütigen Takt Adaptations- und Re-Adaptationsprozesse stattfinden, die an die Konzentrationschwankungen gekoppelt sind. Einige trigeminale Einschätzungen (qualitative Einschätzungen) und die Lästigkeitseinschätzungen (LMS und Befindensskalierung) repräsentieren nur die Konzentrationschwankungen. Eine Veränderung über die 180-minütige Expositionszeit ist nicht zu beobachten. Obwohl die Ameisensäure in den Konzentrationspitzen offenbar trigeminal wirkt, scheint es hier zu keiner temporalen

Summation zu kommen. Eine Zunahme (oder Abnahme) der Empfindlichkeit ist also nicht zu beobachten. Clearance und Abwehrprozesse scheinen so wirksam zu sein, dass sie abgeschlossen sind, bevor die nächste Spitze beginnt (vgl. Kleinbeck et al. 2020). Die Lästigkeitseinschätzung scheint diese Prozesse abzubilden. Anders ist es bei der unspezifischen Nasenreizung. Hier kommt es zu einem Anstieg der Einschätzungen über die 180-minütige Expositionszeit. Kleinbeck et al. (2020) haben ein Modell für die Augenreizung bei Ethylacrylat-Exposition vorgeschlagen, das einen solchen Rating-Verlauf vorhersagt. Dabei sind die Abwehr- und Clearance-Prozesse zu Beginn der nächsten Konzentrationsspitze eben noch nicht abgeschlossen und es kommt zu einer Effekt-Kumulation. Interessanterweise folgt die Augenreizung (LMS und SPES) bei Ameisensäure nicht diesem Verlauf, sondern erreicht nach etwa 60 Minuten einen relativ stabilen Zustand (Sättigungskurve). Die Delle im zeitlichen Verlauf ist wahrscheinlich der Tatsache geschuldet, dass zu diesem Zeitpunkt bei drei der vier Experimente eine große Pause endet (92 von 148 Versuchspersonen). Einen ähnlichen Verlauf haben auch die Einschätzungen präanarkotischer, gustatorischer, respiratorischer Symptome und der allgemeinen Irritation (SPES), außerdem auch wach / müde, entspannt / angespannt und beschwerdefrei / starke Beschwerden, bei denen nach einer gewissen Zeit ein relativ stabiles Niveau erreicht wird. Diese Verläufe könnten Ermüdungsprozessen geschuldet sein, die aber durch die Ameisensäure-Exposition gleichmäßig (Einfluss des Faktors Exposition) verstärkt werden (außer bei der Einschätzung wach / müde selbst).

4.1.3 Physiologische Methoden

Die physiologischen Methoden erfassen direkt physiologische Veränderungen an unterschiedlichen Kompartimenten (für eine Zuordnung vgl. Tabelle 2). Folgende Methoden wurden eingesetzt:

- Atemfrequenz- und -tiefe
- Lidschlussfrequenz
- Biochemische Analyse der Nasalen Lavage Flüssigkeit (NALF)
- Rhinometrie und Rhinomanometrie
- Fraktioniertes exhalierendes Stickstoffmonoxid (FeNO)

Im Anhang finden sich kurze Charakterisierungen der eingesetzten Methoden (8.1.1 Physiologische Methoden).

4.1.3.1 Atemfrequenz und -tiefe

Die Messung von Atemfrequenz und -tiefe diente unterschiedlichen Zwecken. Mit dem Modul „Körperliche Arbeit“ sollten Effekte der erhöhten Atemtätigkeit am Arbeitsplatz (erhöhtes Atemvolumen 10 m³/ 8 Stunden) im Kontext sensorischer Irritationen systematisch untersucht werden. Daher wurden, basierend auf den PWC₁₇₀-Werten (Physical working capacity bei einer Herzfrequenz von 170/ Minute) der VPs, individuelle Belastungen (in Watt) für die Phasen der Fahrradergometrie berechnet. Wie in den Zwischenberichten dargestellt, konnte so eine Verdoppelung des Atemminutenvolumens (von 8 auf 16 l/min) erreicht werden. Neben der Nutzung von Atemfrequenz und -tiefe zur Kontrolle dieses Faktors wurden auch expositionsbezogene Effekte untersucht.

Informationen zur Atemfrequenz liegen aus den Experimenten „körperliche Arbeit“, „Akute Effektverläufe 3+3“ und „Akute Effektverläufe 4+2“ vor. Im Experiment „körperliche Arbeit“ wurde die Atemtiefe nur deskriptiv beschrieben, in den Experimenten „Akute Effektverläufe 3+3“ und „Akute Effektverläufe 4+2“ wurden Informationen dazu aus dem neu beschafften Atemfassungssystem Zephyr Bioharness™ verwendet. Bei der zusammenfassenden Auswertung der drei Experimente ergab sich für die Atemfrequenz das folgende Bild:

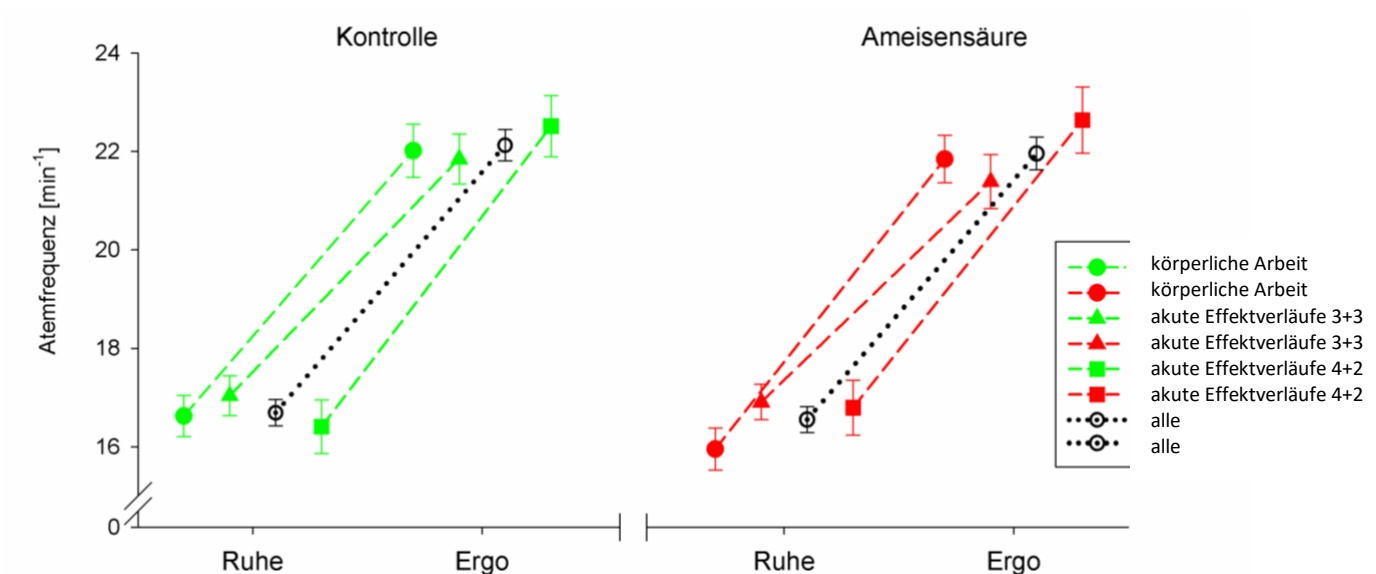


Abb. 6 Atemfrequenzen der VPs in Ruhe- und Ergo-Phasen (Mittel ± SE) bei Exposition gegenüber Raumluft (Kontrolle) und Ameisensäure (immer 0-10 ppm Bedingungen) für die Experimente „körperliche Arbeit“, „Akute Effektverläufe 3+3“ und „Akute Effektverläufe 4+2“ und die Gesamtbetrachtung (alle)

Die Atemfrequenz erhöhte sich signifikant bei körperlicher Belastung von $16,6 \text{ min}^{-1}$ auf $21,8 \text{ min}^{-1}$ ($F_{(1,84)} = 531,87$; $p \leq 0,001$), aber die Exposition gegenüber Ameisensäure hatte auch bei zusammenfassender Auswertung keinen Einfluss. Die Atemfrequenzen der Versuchspersonen waren in den jeweiligen Ruhe- und Ergometer-Phasen nicht signifikant unterschiedlich über die drei Experimente.

Bei der zusammenfassenden Darstellung der Atemtiefe-Daten ergab sich:

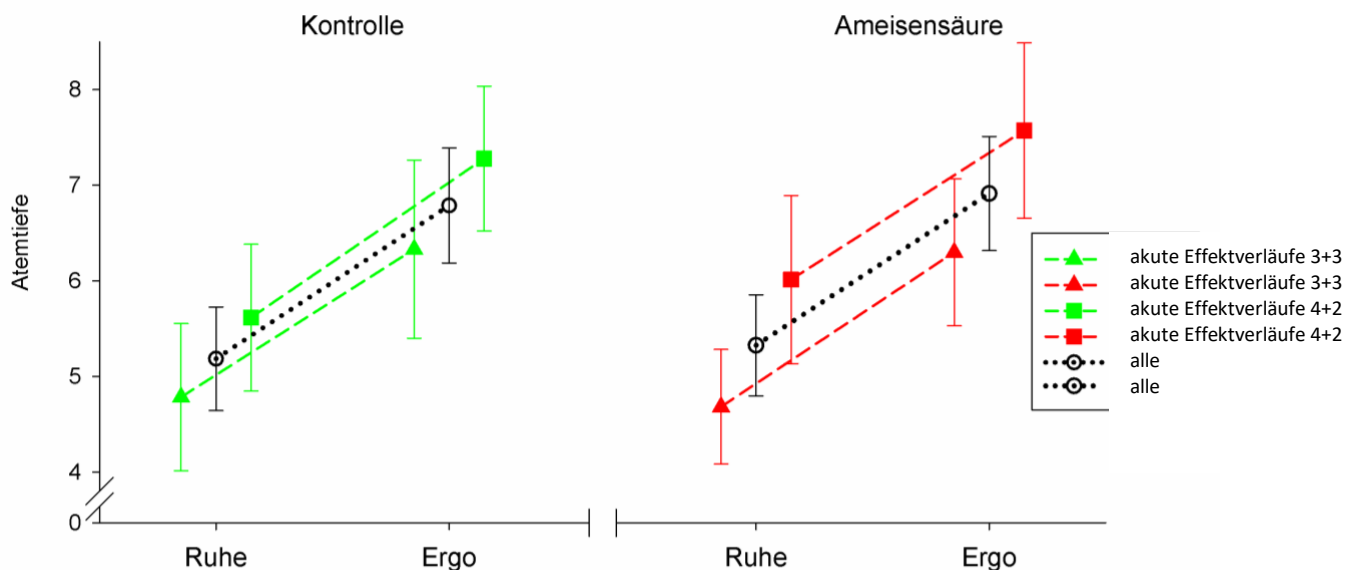


Abb. 7 Atemtiefe der VPs in Ruhe- und Ergo-Phasen (Mittel \pm SE) bei Exposition gegenüber Raumluft (Kontrolle) und Ameisensäure (immer 0-10 ppm Bedingungen) für die Experimente „Akute Effektverläufe 3+3“ und „Akute Effektverläufe 4+2“ und die Gesamtbetrachtung (alle)

Generell muss hier angemerkt werden, dass die Informationen zur Atemtiefe („Breathing Waveform“) aus der Auswertesoftware des Zephyr Bioharness™ nicht für statistische Inferenztests (Prüfung auf Signifikanz) genutzt werden sollten, sondern allein zu deskriptiven Zwecken (Zephyr technology, BioHarness-3, Log Data Descriptions⁶). Es handelt sich um eine arbiträre Größe, die im Laufe der Bestimmung der Atemfrequenz als Hilfsgröße im Algorithmus berechnet wird. Sie wurden daher nur verwendet, um das in den Experimenten angestrebte höhere Atemvolumen während der Ergometer-Phasen zu dokumentieren und deskriptiv zu prüfen. Die Daten in Abb. 7 legen den Schluss nahe, dass sich die Atemtiefe der VPs offensichtlich deutlich beim Übergang von Ruhe- zu Ergometer-Phasen erhöhte und nicht

⁶ <https://www.zephyranywhere.com/media/download/bioharness-log-data-descriptions-07-apr-2016.pdf>

expositionen abhängig war. In den Zwischenberichten zum Projekt wurde für die einzelnen Experimente jeweils aus den Daten für Atemfrequenz und Atemtiefe ein Faktor für die Erhöhung des Atemminutenvolumens abgeleitet, der die angestrebte Erhöhung dieser Größe stützte.

4.1.3.2 Lidschlussfrequenz

Die Lidschlussfrequenz der VPs wurde während der Aufenthaltszeit im ExpoLab nicht so häufig gemessen wie die subjektiven Einschätzungen. Sie wurde unter standardisierten, visuellen Bedingungen von 25 oder 30 Minuten Dauer – entweder während der Abläufe der Mackworth-Tests oder während naturkundlicher Filme, die die VPs betrachteten, erhoben. Damit ist die geringste Gemeinsamkeit aller Experimente die Messung der Lidschlussfrequenz zu Beginn und zum Ende der jeweiligen ExpoLab-Zeit. Innerhalb der entweder zwei, 3-, 4- oder 6-stündigen Zeitbereiche im ExpoLab gab es keine weiteren übereinstimmenden Messbereiche, die sich für andere, experimentübergreifende Analysen angeboten hätten. Bei der Auswertung der Lidschlussdaten wurden zwei zeitlich voneinander getrennte Informationen über die Lidschlussfrequenz generiert (vgl. Zwischenberichte zu den Experimenten), indem jeweils ein 5-Minuten-Intervall zu Beginn und ein anderes am Ende der 25 oder 30 Minuten langen Situationen ausgewertet wurde. Dies ermöglicht es etwa, die Reaktionen der VPs auf kurzfristige Expositionsänderungen in Expositionsprofilen mit Spitzen zu erfassen, da die Messsituationen genau dazu passend im Experimentablauf geplant worden waren. Stellt man die vorhandenen Informationen nun in dieser maximal verfügbaren zeitlichen Auflösung dar, trägt also die Lidschlussfrequenz pro jeweiligem, ausgewerteten 5-Minuten-Intervall ab (jeweils zwei pro 25-30 minütiger standardisierter Erfassungssituation am Anfang und am Ende der ExpoLab-Phase), so ergibt sich für einen ersten Überblick der Vergleich zwischen Kontroll- und Ameisensäure-Szenarien mit Spitzen (MAK-Bedingung mit Spitzen) in Abb. 8, gemittelt über alle Experimente. Man erkennt, dass unter Ameisensäureexposition die Lidschlussraten zwar im Mittel über die gesamten durchgeführten Experimente etwas höher lagen als in der Kontrollbedingung, sich aber eine statistisch signifikante Differenz für diesen Vergleich erst ganz am Ende der 4- bis 6-stündigen Aufenthaltsdauer im ExpoLab des IfADo ergab (signifikante Dreifach-Interaktion zwischen Exposition, Aufenthaltsdauer im ExpoLab (Anfang vs. Ende) und erstem vs. zweitem 5-min-

Intervall ($F_{(1,129)} = 27,29$; $p \leq 0,05$) und signifikanter gezielter Kontrast im letzten betrachteten 5-min-Intervall ($p \leq 0,05$)).

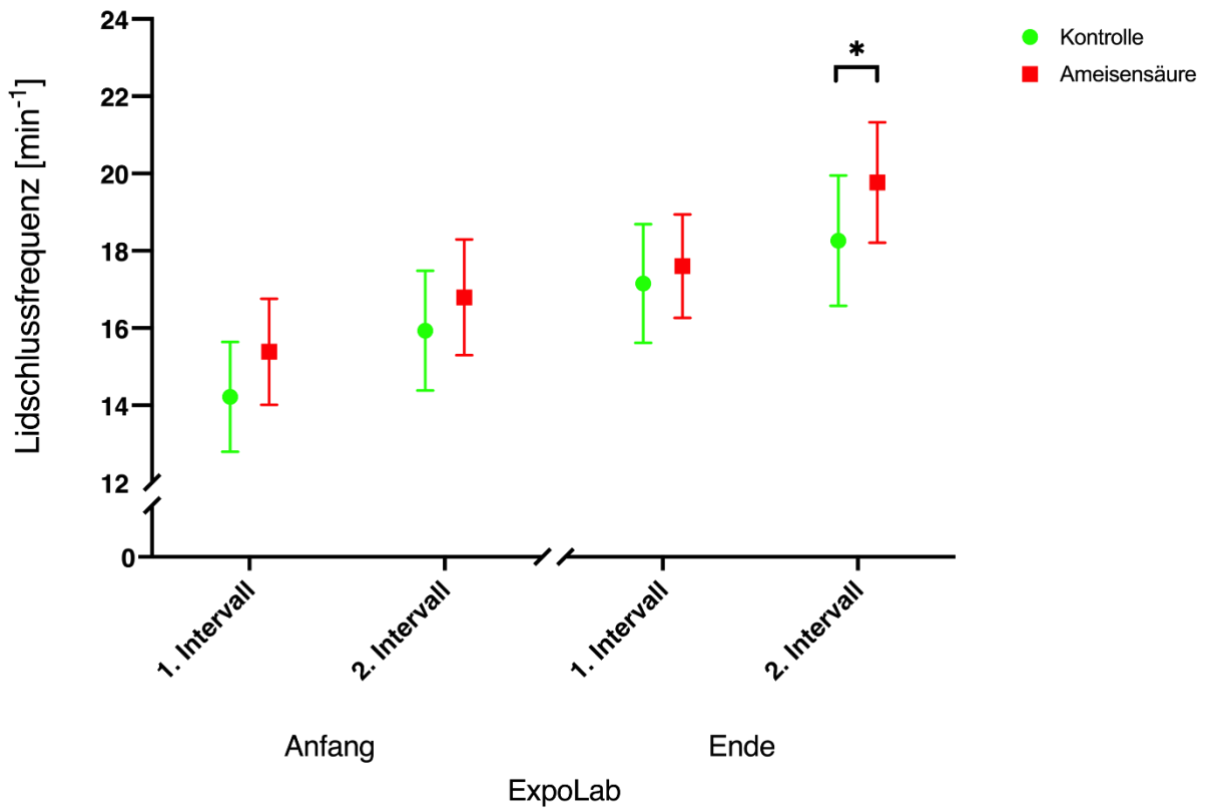


Abb. 8 Lidschlussfrequenzen der VPs zu Anfang und zum Ende der jeweiligen ExpoLab-Phasen (Mittel und 95%-KI) bei Exposition gegenüber Raumluft (Kontrolle) und Ameisensäure (immer mit 0-10 ppm Szenarien), gemittelt über die Experimente „Sensibilisierung“, „körperliche Arbeit“, „Akute Effektverläufe 3+3“ und „Akute Effektverläufe 4+2“

Stellt man diese Informationen nicht gemittelt, sondern für jedes Experiment (bzw. den Teil des Experimentes „körperliche Arbeit“ mit Ergometerbelastung) einzeln dar, so ergibt sich das in Abb. 9 dargestellte Bild.

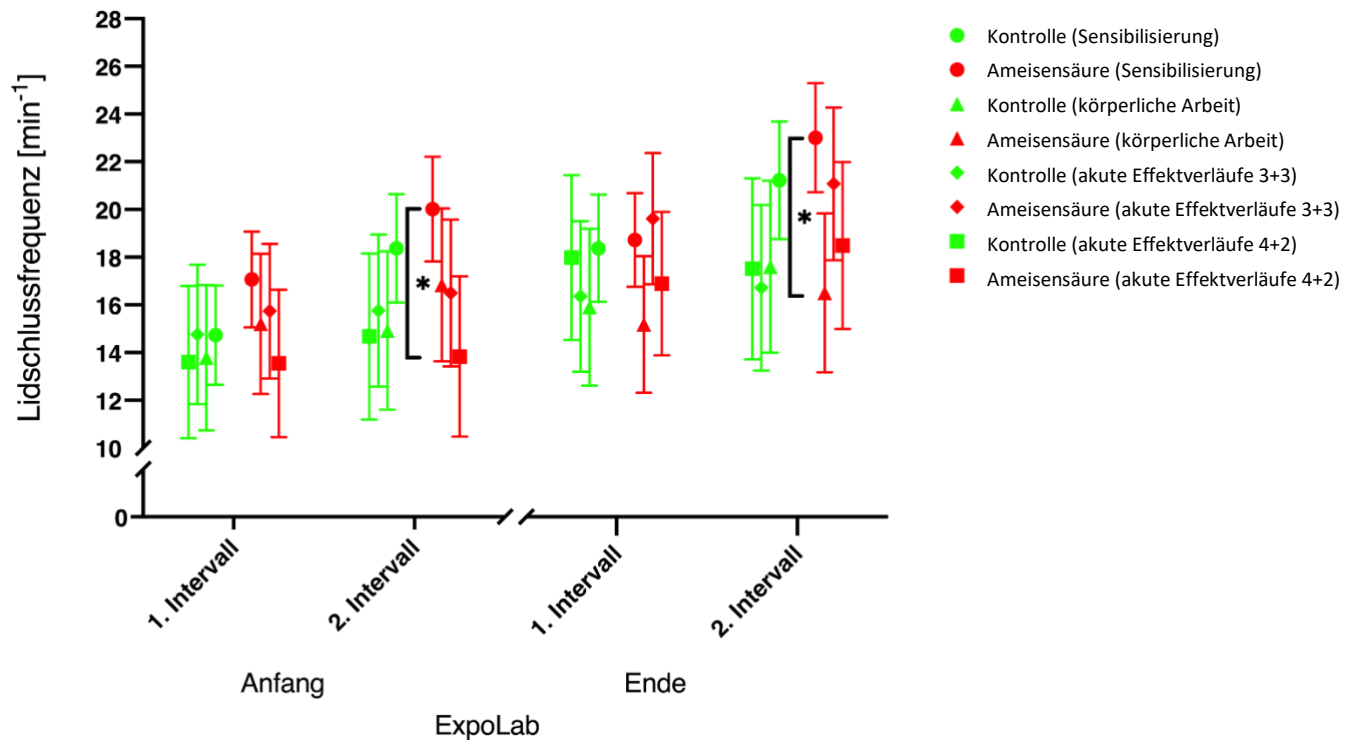


Abb. 9 Lidschlussfrequenzen der VPs (Mittel und 95%-KI) zu Anfang und zum Ende der jeweiligen ExpoLab-Phasen bei Exposition gegenüber Raumluft (Kontrolle) und Ameisensäure (immer mit 0-10 ppm Szenarien), dargestellt für jedes einzelne Experiment „Sensibilisierung“, „körperliche Arbeit“, „Akute Effektverläufe 3+3“ und „Akute Effektverläufe 4+2“ und in 5-min-Intervall-Auflösung

In der Feinheit dieser Auflösung der Daten zeigten sich zwei signifikante Unterschiede bei den Lidschlussdaten unter Ameisensäureexposition. Im allerletzten ausgewerteten 5-min-Intervall der Zeiten im ExpoLab lagen die Werte im Experiment „Sensibilisierung“ signifikant höher als im Experiment „körperliche Arbeit“ (gezielter Kontrast: $p \leq 0,05$). Dies kann zum einen mit den verschiedenen Stichproben zusammenhängen (im Experiment „Sensibilisierung“ ein Anteil von Allergikern, vgl. auch entsprechenden Zwischenbericht), zum anderen aber auch damit, dass im Experiment „Sensibilisierung“ der üblicherweise am IfADO während der Lidschlussmessung verwendete aktive Task Mackworth-Uhr eingesetzt wurde und im Experiment „körperliche Arbeit“ naturkundliche Filme (passiver Task). Im zweiten ausgewerteten 5-min-Intervall der Zeiten im ExpoLab lagen die Werte im Experiment „Sensibilisierung“ signifikant höher als im Experiment „Akute Effektverläufe 4+2“ (gezielter Kontrast: $p \leq 0,05$). Auch dieser Unterschied kann zum einen mit den verschiedenen Stichproben zusammenhängen (im Experiment „Sensibilisierung“ ein Anteil von Allergikern), zum anderen aber auch damit, dass im Experiment „Akute Effektverläufe 4+2“ die

Ameisensäurekonzentration während der 25-minütigen standardisierten Erfassungssituation abfiel und im Experiment „Sensibilisierung“ anstieg.

Detailliertere Analysen der experimentellen Einflüsse finden sich im Abschnitt „4.2.1.3. Ergebnisse der Lidschlussfrequenz“.

4.1.3.3 *Nasale Lavage Flüssigkeit (NALF)*

Auch für die biochemischen Parameter, die in der **nasalen Lavage Flüssigkeit (NALF)** bestimmt wurden, ist eine zusammenfassende Auswertung für einen Parameter möglich. Während im Modul „Sensibilisierung“ mit dem Neuropeptid Substanz P (neurogene Inflammation) und dem Alarmine oder damage-associated molecular pattern (DAMP) High-Mobility-Group-Protein B1 (HMGB1) für zwei NALF-Parameter signifikante Effekte der Exposition beobachtet wurden, zeigten die beiden Cytokine IL-10 (anti-inflammatorisch) und TNF α (pro-inflammatorisch) in allen Experimenten keine expositionsabhängigen Veränderungen und waren in den NALF-Proben sehr häufig nicht nachweisbar. Während sich die expositionsabhängigen Effekte für HMGB1 in allen anderen Experimenten der drei Module zeigten, konnte eine Erhöhung von Substanz P in der NALF der Proband*innen nach den Expositionen gegenüber Ameisensäure nicht repliziert werden. Für HMGB1 ist jedoch eine gemeinsame Auswertung der Experimente möglich, wenn aus dem Modul „Körperliche Arbeit“ nur eine Bedingung (ohne Fahrradergometrie) verwendet wird und die Zwischenmessungen (mittags) in den Experimenten des Moduls „Akute Effektverläufe“ weggelassen werden. In der rmANOVA für die HMGB1 Konzentrationen in der NALF der 165 Proband*innen, die für diese Analyse zur Verfügung stehen, zeigten sich ein signifikanter Haupteffekt der Expositionsdauer ($F_{(1,141)} = 19,71$; $p \leq 0,001$; partielles $\eta^2 = 0,12$) und eine signifikante Interaktion der Faktoren Exposition und Expositionsdauer ($F_{(1,141)} = 33,87$, $p \leq 0,001$; partielles $\eta^2 = 0,19$). Die dreifache Interaktion mit dem Faktor Experiment war statistisch nicht signifikant ($F_{(1,141)} = 0,31$; $p = 0,819$, partielles $\eta^2 = 0,01$). Abb. 10 veranschaulicht diese Effekte für diesen biochemischen Indikator einer physiologischen Reaktion der Proband*innen auf die akute Exposition gegenüber Ameisensäure.

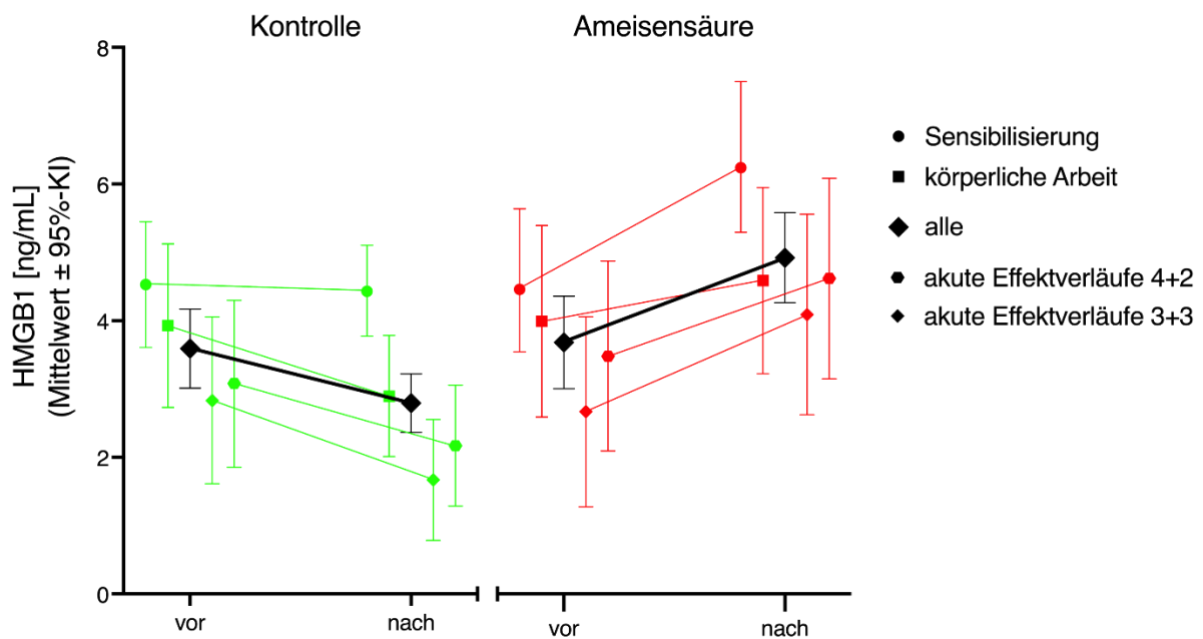


Abb. 10 HMGB1 Konzentrationen in den NALF der Proband*innen vor und nach den Expositionen gegenüber Raumluft (Kontrolle) und Ameisensäure (immer 0-10 ppm Bedingungen der Experimente) für die vier Experimente und die Gesamtbetrachtung (alle)

Aus den gezielten Kontrasten wird deutlich, dass sich die „vor“-Messungen nicht signifikant voneinander unterscheiden (Differenz: 0,09; 95%-KI: -0,71 – 0,53), die Abnahme der HMGB1 Konzentrationen in den Kontrollbedingungen (Differenz: -0,80; 95%-KI: -1,22 – -0,38) und die Zunahme in den Ameisensäurebedingungen (Differenz: 1,24; 95%-KI: 0,63 – 1,85) hingegen beide signifikant waren. Signifikant unterschiedlich waren auch die Messungen nach den beiden unterschiedlichen Expositionen (Differenz: 2,13; 95%-KI: 1,54 – 2,72). Diese Muster der Veränderungen sind in allen vier Experimenten zu beobachten, wobei sich das Ausmaß der Veränderungen über die Zeit teilweise unterschied. Die zusammenfassenden Ergebnisse zeigen jedoch vor allem, dass die Erhöhung der HMGB1 Konzentration in der NALF stabil über alle Experimente hinweg zu beobachten ist. Über die Mechanismen dieses „stabil“ durch Ameisensäure ausgelösten Effekt kann aktuell nur spekuliert werden. In aktuellen Publikationen (siehe Review von Yang et al. 2021) gibt es Vermutungen, dass HMGB1 auch im Zusammenhang mit dem peripheren und zentralen Nervensystem eine wichtige immunregulatorische Rolle spielen könnte. Einige experimentelle Studien konnten zeigen, dass depolarisierte, d.h. aktivierte Neurone HMGB1 ausschütten können und so weitere Signalkaskaden einer Entzündungsreaktion auslösen können.

Weitere detaillierte Auswertungen finden sich in Abschnitt „4.2.1.4.1 Nasale Lavage Flüssigkeit (NALF)“.

4.1.3.4 *Rhinometrie und Rhinomanometrie*

Alle gemessenen Größen der Rhinometrie (Querschnittsflächen und Volumina; MAC1, MCA2, Vol1, Vol2; vgl. Anhang „8.1.1.3 Akustische Rhinometrie“) und der Rhinomanometrie (nasaler Flow; vgl. Anhang „8.1.1.4 Rhinomanometrie“) wurden in einer multivariaten Varianzanalyse mit wiederholten Messungen analysiert (Vollständige Datensätze lagen von 144 Versuchspersonen vor). Es zeigt sich bei der multivariaten Analyse, dass der Faktor Exposition nicht signifikant wird. Allerdings werden der Faktor Messzeitpunkt (vorher, nachher; $F_{(6,138)} = 13,0$; $p \leq 0,001$; partielles $\eta^2 = 0,36$) und die Interaktion zwischen den Faktoren Exposition und Messzeitpunkt ($F_{(6,138)} = 2,8$; $p \leq 0,05$; partielles $\eta^2 = 0,11$) signifikant.

In der univariaten Analyse zeigt sich ein signifikanter Einfluss der Exposition für die beiden Volumenmaße der Rhinometrie (Vol1: $F_{(1,143)} = 5,2$; $p \leq 0,05$; Vol2: $F_{(1,143)} = 4,6$; $p \leq 0,05$). In beiden Fällen führt die Exposition zu einem größeren Volumen. Der Faktor Messzeitpunkt wird für ein Flächenmaß (MCA2: $F_{(1,143)} = 7,4$; $p \leq 0,01$) signifikant. Diese Fläche wird zum zweiten Messzeitpunkt (Nachmessung) kleiner.

Die Interaktion zwischen den Faktoren Exposition und Messzeitpunkt wird für alle Flächen- und Volumenmaße der Rhinometrie (MCA1: $F_{(1,143)} = 5,0$; $p \leq 0,05$; MCA2: $F_{(1,143)} = 8,9$; $p \leq 0,01$; Vol1: $F_{(1,143)} = 11,7$, $p \leq 0,01$; Vol2: $F_{(1,143)} = 12,5$; $p \leq 0,001$) signifikant. In allen Fällen zeigen die post hoc Tests, dass sich die Szenarien beim zweiten Messzeitpunkt (nachher) unterscheiden (mit höheren Werten bei Exposition; vgl. Abb. 11).

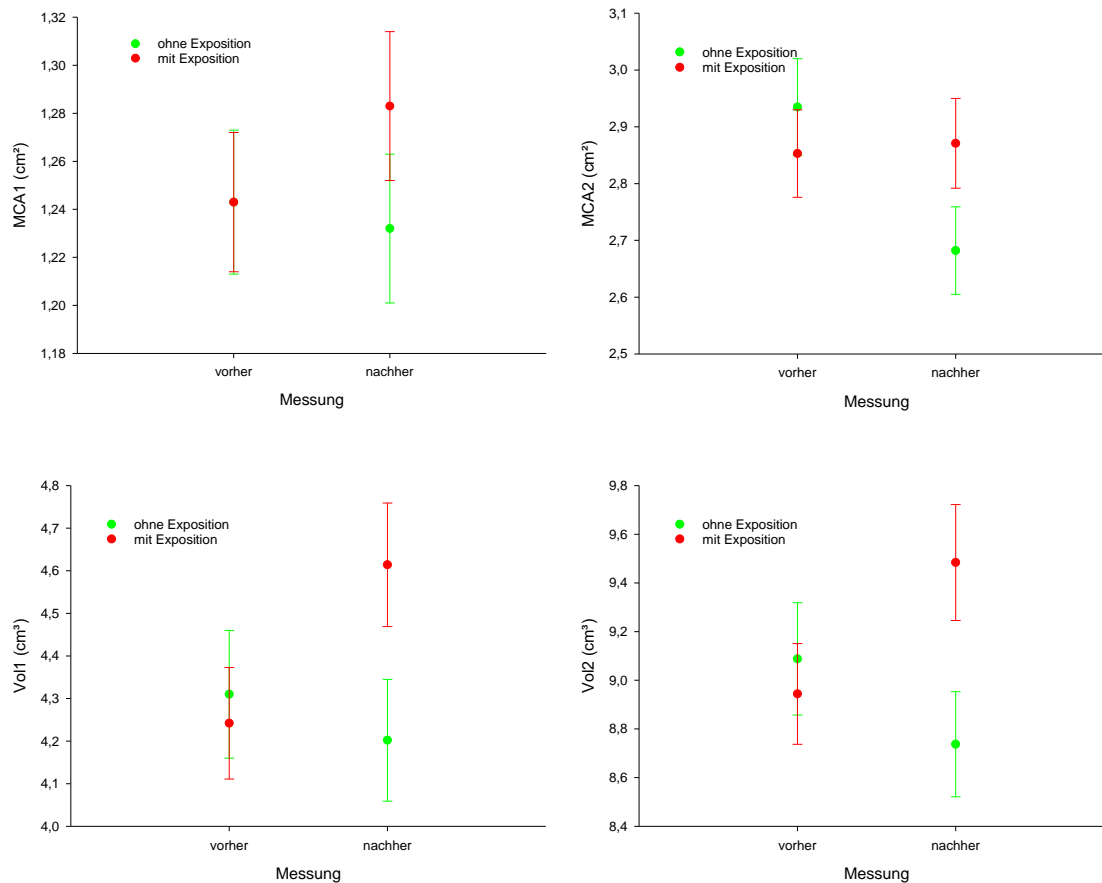


Abb. 11 Interaktion der Faktoren Exposition und Messzeitpunkt für die Flächen- und Volumenmaße der Rhinometrie

Der nasale Flow ist unabhängig von den analysierten Faktoren (Exposition und Messzeitpunkt) und deren Interaktion. Detailliertere Analysen finden sich in Abschnitt „4.2.1.4.2 Rhinometrie/Rhinomanometrie“

4.1.3.5 Fraktioniertes exhalierendes Stickstoffmonoxid (FeNO)

Es zeigt sich bei der multivariaten Analyse, dass weder der Faktor Exposition, noch der Faktor Messzeitpunkt, noch deren Interaktion signifikant werden. Detailliertere Analysen finden sich in Abschnitt „4.2.1.4.3 Fraktioniertes exhalierendes Stickoxid (FeNO)“.

4.1.4 Fazit der gemeinsamen Betrachtung der physiologischen Methoden für alle Versuchspersonen

Für die Maße der Rhinometrie zeigt sich ein eindeutiger Expositionseffekt in der Nachmessung. Sowohl Flächen als auch Volumina sind nach Ameisensäure-Exposition größer

als in der Nachmessung der Bedingung ohne Ameisensäure. Im nasalen Flow wird dieser Expositionseffekt allerdings nicht sichtbar.

Die Ameisensäure-Exposition hat keinen Einfluss auf die FeNO-Werte.

Betrachtet man die biochemischen Parameter, die in der NALF gemessen wurden, so ergibt sich eine leichte, aber signifikante Erhöhung der HMGB1 Konzentration nach der Exposition gegenüber Ameisensäure (0-10 ppm). Während der Kontrollbedingung ist ein absteigender Trend zu beobachten. Dieser Interaktionseffekt tritt sehr stabil auf und ist unabhängig von den vier betrachteten Experimenten. Ein rein stichprobenabhängiger Effekt liegt also nicht vor. Für die anderen drei biochemischen Parameter zeigte sich kein stabiler und systematischer Einfluss der Exposition gegen Ameisensäure auf deren Konzentration in der NALF nach der Exposition.

Die Ameisensäure-Exposition hatte keinen Einfluss auf die Werte von Atemfrequenz oder Atemtiefe.

Bei der Lidschlussfrequenz zeigte die „Grobanalyse“ einen leichten Effekt der Ameisensäureexposition. Der ansteigende Trend der Lidschlussfrequenz über 4- oder 6-stündige Expositionsphasen wurde durch die letzte Expositionsspitze leicht erhöht. Dabei müssen jedoch die Unterschiede zwischen den Experimenten berücksichtigt werden, da erhebliche Unterschiede im Experimentdesign bestehen, die genauer betrachtet werden müssen.

Im Folgenden soll analysiert werden, ob für diese Ergebnisse nur bestimmte experimentell untersuchte Veränderungen in Kombination mit der Ameisensäure-Exposition verantwortlich sind. Es könnte auch sein, dass der Zeittrend durch bestimmte Aufgabenanforderungen beeinflusst wird und nicht (nur) durch die Ameisensäurekonzentration (z.B. im Hinblick auf Augenreizungen). Im folgenden Abschnitt wird weiterhin untersucht, ob diese Effekte in allen Experimenten gleich sind oder ob ggf. bestimmte experimentelle Variationen diese Zusammenhänge beeinflussen.

4.2 Unterscheiden sich die Ergebnisse der Experimente voneinander?

In diesem Abschnitt wird zunächst für alle beschriebenen Messungen der Einfluss des Experiments („Sensibilisierung“, „körperliche Arbeit“, „Akute Effektverläufe 3+3“, „Akute

Effektverläufe 4+2“; 4-fach gestuft) analysiert (4.2.1). Für die subjektiven Einschätzungen anhand der LMS werden darüber hinaus die einzelnen experimentellen Variationen vergleichend dargestellt (4.2.2). Der Einfluss des Faktors Dauer wird ebenfalls anhand der LMS-Einschätzungen dargestellt (4.2.3). Es schließt sich ein quantitativer Vergleich der experimentellen Variationen an (4.2.4).

4.2.1 Der Einfluss des Experiments

Während sich der getrennte Vergleich der Kontrollbedingungen und der Experimentalbedingungen der Experimente aus Gründen der Übersichtlichkeit für die subjektiven Einschätzungen, deren Analyse in diesem Bericht den größten Teil einnimmt (vgl. 3.1 Vergleichende Ergebnisübersicht), anbietet, werden Kontroll- und Experimentalbedingungen der physiologischen Messungen gemeinsam analysiert.

4.2.1.1 Vergleich der Kontrollbedingungen der Experimente (subjektive Einschätzungen)

Im Vergleich der Nullbedingungen der Experimente wird analysiert, ob sowohl die unterschiedlichen Versuchspersonengruppen der Experimente als auch deren Versuchsanordnungen zu vergleichbaren Ergebnissen führen. Um die Experimentalbedingungen vergleichen zu können, wäre es günstig, wenn keine Unterschiede in den Ergebnissen der Kontrollbedingungen zwischen den Experimenten vorhanden sind. Die bisherige Vorgehensweise bei der Analyse (rmMANOVA) wurde hier mit dem Experiment als Zwischensubjektfaktor (4-fach gestuft: „Sensibilisierung“, „körperliche Arbeit“, „Akute Effektverläufe 3+3“, „Akute Effektverläufe 4+2“) und den Ergebnissen nur der Kontrollbedingungen angewendet.

4.2.1.1.1 Labeled Magnitude Scale (LMS)

In der multivariaten Analyse der Zwischensubjekteffekte zeigt der Faktor Experiment keinen signifikanten Einfluss ($F_{(33,408)} = 1,1$; $p > 0,20$). Die Wechselwirkung von Experiment und Expositionsdauer wird nicht signifikant ($F_{(198,243)} = 1,5$; $p > 0,05$). In der multivariaten Analyse der Innersubjekteffekte wird die Interaktion allerdings signifikant ($F_{(198,9504)} = 1,7$; $p \leq 0,001$).

Der Faktor Experiment wird für die Einschätzungen Niesreiz ($F_{(3,144)} = 4,7$; $p \leq 0,01$), Nasenreizung ($F_{(3,144)} = 3,8$; $p \leq 0,01$), Geruch ($F_{(3,144)} = 2,9$; $p \leq 0,05$), Lästigkeit ($F_{(3,144)} = 5,8$; $p \leq 0,001$) und Kitzelnd ($F_{(3,144)} = 3,3$; $p \leq 0,05$) signifikant (vgl. Abb. 12).

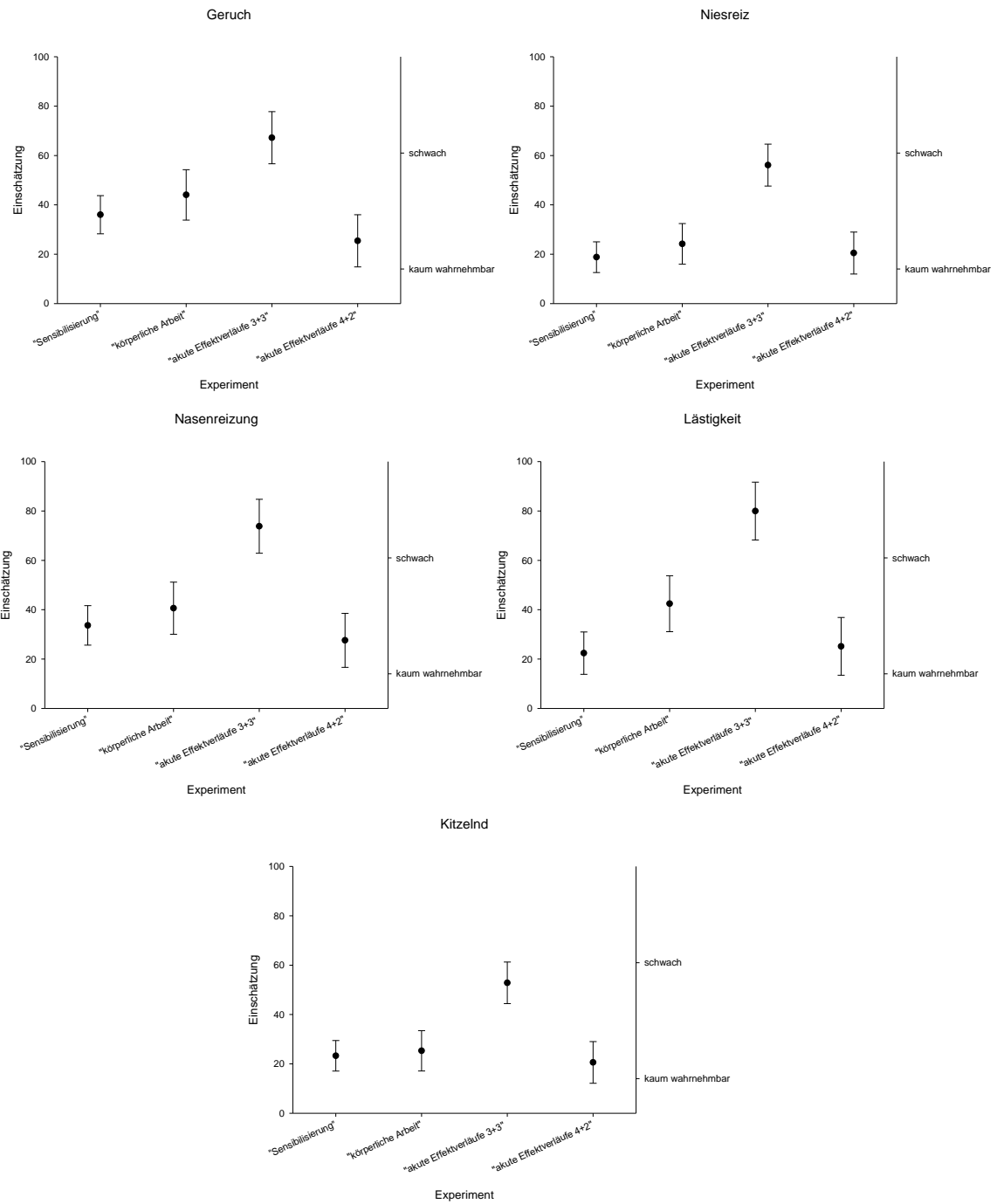


Abb. 12 Einfluss des Faktors Experiment auf verschiedene Ratings in der Kontrollbedingung

Post hoc Tests bestätigen, dass die Angaben im Experiment „Akute Effektverläufe 3+3“ für alle Ratings höher sind als die Ratings in mindestens einem anderen Experiment (bei Niesreiz und Kitzelnd sogar höher als alle anderen Experimente).

Letztlich ist es nicht möglich, diese Diskrepanz der Ergebnisse den Versuchspersonen oder den Versuchsumständen eindeutig zuzuordnen. Daher ist es sinnvoll, die Interaktion des Faktors Expositionsdauer mit dem Faktor Experiment zu analysieren. Systematische Unterschiede zu bestimmten Zeitpunkten können ein Indiz für äußere Umstände sein, höhere Werte bei allen Messzeitpunkten (vor allem beim ersten Messzeitpunkt) würden für einen Unterschied zwischen den untersuchten Versuchspersonengruppen sprechen.

Die Interaktion der Faktoren Experiment und Expositionsdauer wird für die Einschätzungen Niesreiz ($F_{(18,864)} = 2,8; p \leq 0,001$), Nasenreizung ($F_{(18,864)} = 3,2; p \leq 0,001$), Augenreizung ($F_{(18,864)} = 2,2; p \leq 0,01$), Lästigkeit ($F_{(18,864)} = 2,2; p \leq 0,01$) und Kitzelnd ($F_{(18,864)} = 2,9; p \leq 0,001$) signifikant (vgl. Abb. 13).

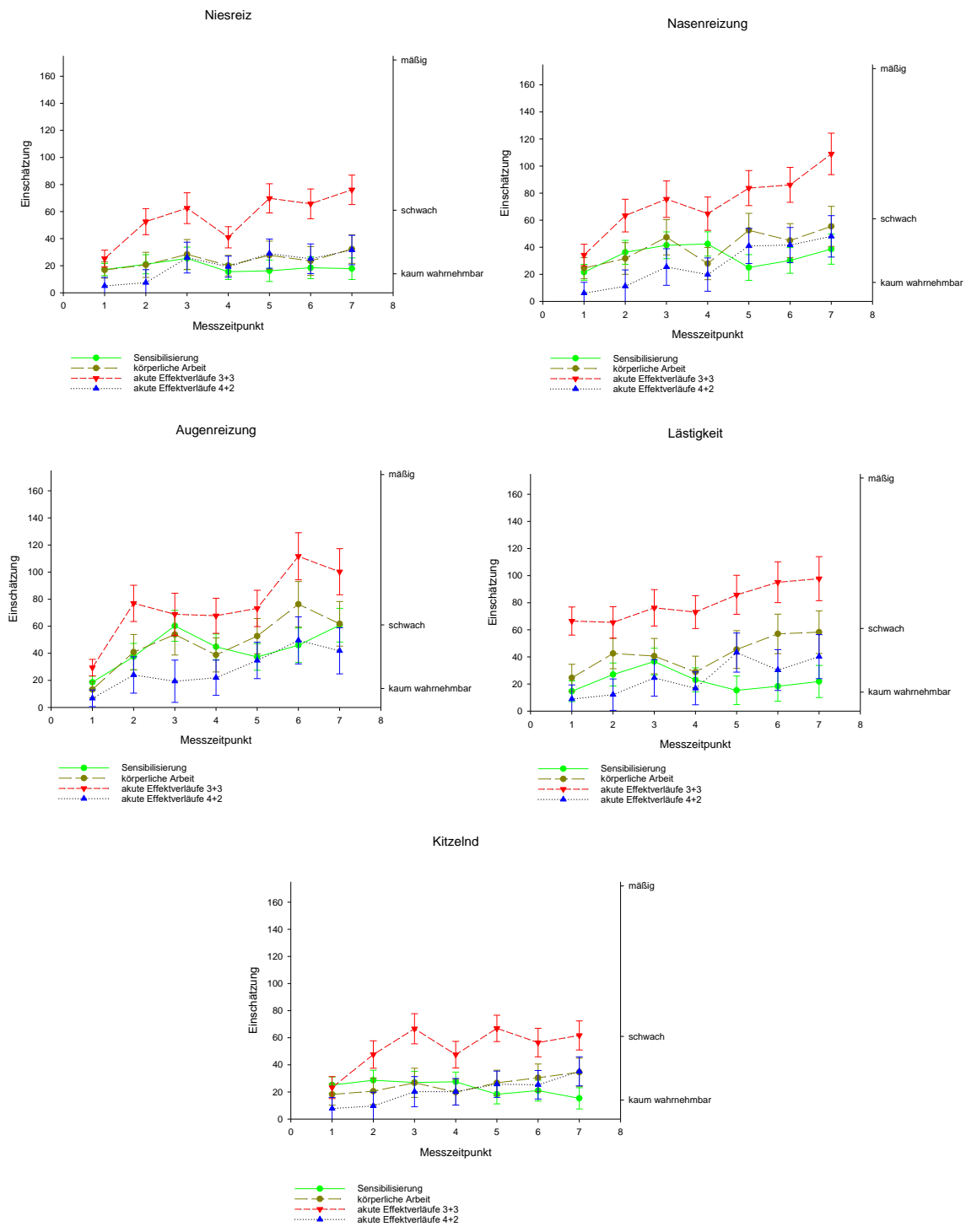


Abb. 13 Zeitverläufe der Einschätzungen von Niesreiz, Nasenreizung, Augenreizung, Lästigkeit und Kitzelnd in den Kontrollbedingungen der einzelnen Experimente

Es fällt auf, dass die Versuchspersonen im Experiment „Akute Effektverläufe 3+3“ bei allen Reizwirkungseinschätzungen außer Lästigkeit auf dem gleichen Niveau starten wie die Versuchspersonen in den anderen Experimenten. Während sich die Einschätzungen Niesreiz, Nasenreizung, Augenreizung und Kitzelnd aus den vier Experimenten beim ersten

Messzeitpunkt nicht signifikant unterscheiden (Post hoc Tests) ist die Lästigkeitseinschätzung des Experiments „Akute Effektverläufe 3+3“ zum ersten Messzeitpunkt bereits höher als bei den anderen drei Experimenten. Zu den nachfolgenden Messzeitpunkten sind die Einschätzungen im Experiment „Akute Effektverläufe 3+3“ auf der Mittelwertebene höher als die der anderen Experimente. Post hoc Tests zeigen signifikante Unterschiede zwischen Experiment „Akute Effektverläufe 3+3“ und den anderen Experimenten bei Nasenreizung zu allen Messzeitpunkten (außer Messzeitpunkt 3; Pause bei den Experimenten „Akute Effektverläufe 3+3“ und „Akute Effektverläufe 4+2“). Bei den restlichen Einschätzungen sind die Unterschiede nicht so eindeutig, aber es gibt einzelne Signifikanzen (z.B. Nasenreizung, Messzeitpunkt 7, Einschätzung bei Experiment „Akute Effektverläufe 3+3“ höher als bei allen anderen Experimenten). Die zu bearbeitenden Aufgaben sind in den Experimenten „Akute Effektverläufe 3+3“ und „Akute Effektverläufe 4+2“ zwischen den ersten sieben Messzeitpunkten gleich, dazu unterschiedliche Aufgaben(reihenfolgen) gibt es in den Experimenten „Sensibilisierung“ und „körperliche Arbeit“ (vgl. Anhang 8.2 Ablaufpläne). Der erste Messzeitpunkt unterscheidet sich in den Experimenten allerdings nicht. Die höheren Einschätzungen im Experiment „Akute Effektverläufe 3+3“ können daher nicht auf unterschiedlich beanspruchende Aufgaben oder Rahmenbedingungen zurückgeführt werden. Eine mögliche Erklärung wäre, dass die unterschiedlichen Einschätzungen im Experiment „Akute Effektverläufe 3+3“ Folge systematischer Unterschiede in Persönlichkeitsmerkmalen sind. Die erfassten Persönlichkeitsmerkmale (chemische Sensitivität, Ängstlichkeit, Neurotizismus, Extraversion, Offenheit, Verträglichkeit, Gewissenhaftigkeit) liefern dafür allerdings keinen Anhaltspunkt.

4.2.1.1.2 Swedish Performance Evaluation Scale (SPES)

Bei der Symptomeinschätzung zeigt sich multivariat kein signifikanter Einfluss des Faktors Experiment, wohl aber eine Interaktion mit dem Faktor Expositionsdauer ($F_{(126,315)} = 3,0$; $p \leq 0,001$). Bei der Analyse der Innersubjekteffekte zeigt sich jedoch, dass der Faktor Experiment einen Einfluss auf die Angaben olfaktorischer Symptome ($F_{(3,144)} = 3,9$; $p \leq 0,01$) und respiratorischer Symptome ($F_{(3,144)} = 3,5$; $p \leq 0,05$) hat (vgl. Abb. 14).

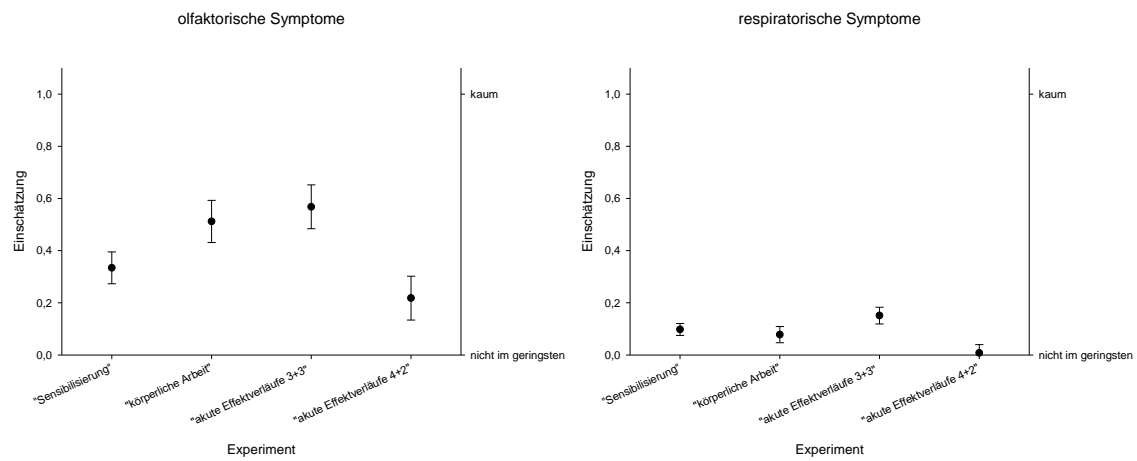


Abb. 14 Einfluss des Faktors Experiment auf die Symptomangaben in der Kontrollbedingung

Die respiratorischen Symptome sind auf einem verschwindend niedrigen Niveau. Unterschiede sind höchst wahrscheinlich nicht relevant. Die Ratings der olfaktorischen Symptome sind im Experiment „Akute Effektverläufe 4+2“ niedriger als im Experiment „körperliche Arbeit“ und im Experiment „Akute Effektverläufe 3+3“. Die Interaktion zwischen dem Faktor Experiment und dem Faktor Messzeitpunkt wird bei allen Symptomangaben (bis auf respiratorische Symptome) signifikant. Ein einheitliches Muster ist nicht erkennbar.

4.2.1.1.3 Befindensskalierung

Bei der Befindens-Einschätzung zeigt sich multivariat kein Effekt des Faktors Experiment, wohl aber eine Interaktion mit dem Faktor Expositionsdauer ($F_{(72,369)} = 2,9; p \leq 0,001$). Bei der Analyse der Zwischensubjekteffekte zeigt sich kein Einfluss des Faktors Experiment. Die Interaktion des Faktors Experiment mit dem Faktor Expositionsdauer wird für alle vier Einschätzungen signifikant. Ein einheitliches Muster ist allerdings nicht erkennbar.

4.2.1.2 Vergleich der Experimentalbedingungen der Experimente (subjektive Einschätzungen)

Im Vergleich der Expositionsbedingungen der Experimente (subjektive Einschätzungen) wird analysiert, ob sowohl die unterschiedlichen Versuchspersonengruppen der Experimente als auch deren Versuchsanordnungen zu vergleichbaren Ergebnissen führen. Die bisherige Vorgehensweise bei der Analyse (rmMANOVA) wurde hier mit dem Experiment als Zwischensubjektfaktor (4-fach gestuft: „Sensibilisierung“, „körperliche Arbeit“, „Akute Effektverläufe 3+3“, „Akute Effektverläufe 4+2“) und den Ergebnissen nur der Expositionsbedingungen (0-10 ppm Ameisensäure) angewendet.

4.2.1.2.1 Labeled Magnitude Scale (LMS)

In der multivariaten Analyse der Zwischensubjekteffekte wird der Faktor Experiment nicht signifikant. Die Wechselwirkung von Experiment und Expositionsdauer ($F_{(198,243)} = 2,0$; $p \leq 0,001$; partielles $\eta^2 = 0,62$) wird hingegen signifikant. In der multivariaten Analyse der Innersubjekteffekte wird die Interaktion ebenfalls signifikant ($F_{(198,9504)} = 2,3$; $p \leq 0,001$).

Der Faktor Experiment wird für die Einschätzung Niesreiz ($F_{(3,144)} = 3,1$; $p \leq 0,05$; vgl. Abb. 15) signifikant. Die Einschätzungen von Nasenreizung und Kitzelnd werden nicht signifikant ($p \leq 0,20$).

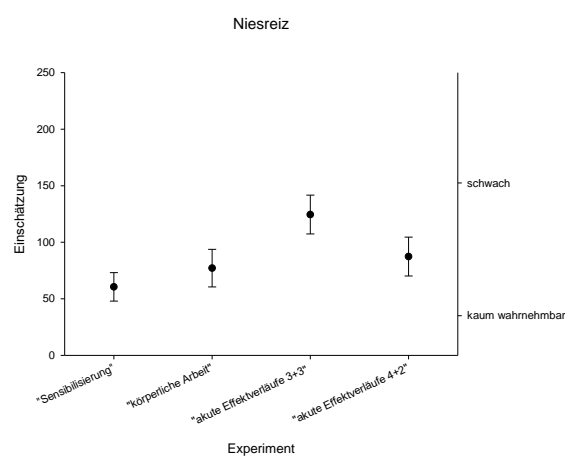


Abb. 15 Einfluss des Faktors Experiment auf die Niesreiz-Ratings in der Expositionsbedingung

Post hoc Tests bestätigen, dass sich die Angaben in den Experimenten „Sensibilisierung“, „körperliche Arbeit“, „Akute Effektverläufe 4+2“ für alle Ratings nicht signifikant unterscheiden. Die Ratings von Experiment „Akute Effektverläufe 3+3“ sind höher als die von Experiment „Sensibilisierung“. Dieser Unterschied ist auch bereits in der Kontrollbedingung signifikant geworden.

Die Interaktion der Faktoren Experiment und Expositionsdauer wird für alle Einschätzungen (alle $F_{(18,864)} > 2,2$; alle $p \leq 0,01$) signifikant. Abb. 16 zeigt repräsentative Verläufe (Verlaufsmuster; vgl. Tabelle 6): Geruchsintensität, Lästigkeit, unspezifische Nasensymptome (Niesreiz, Nasenreizung kitzelnd) und Augenreizung pro Experiment.

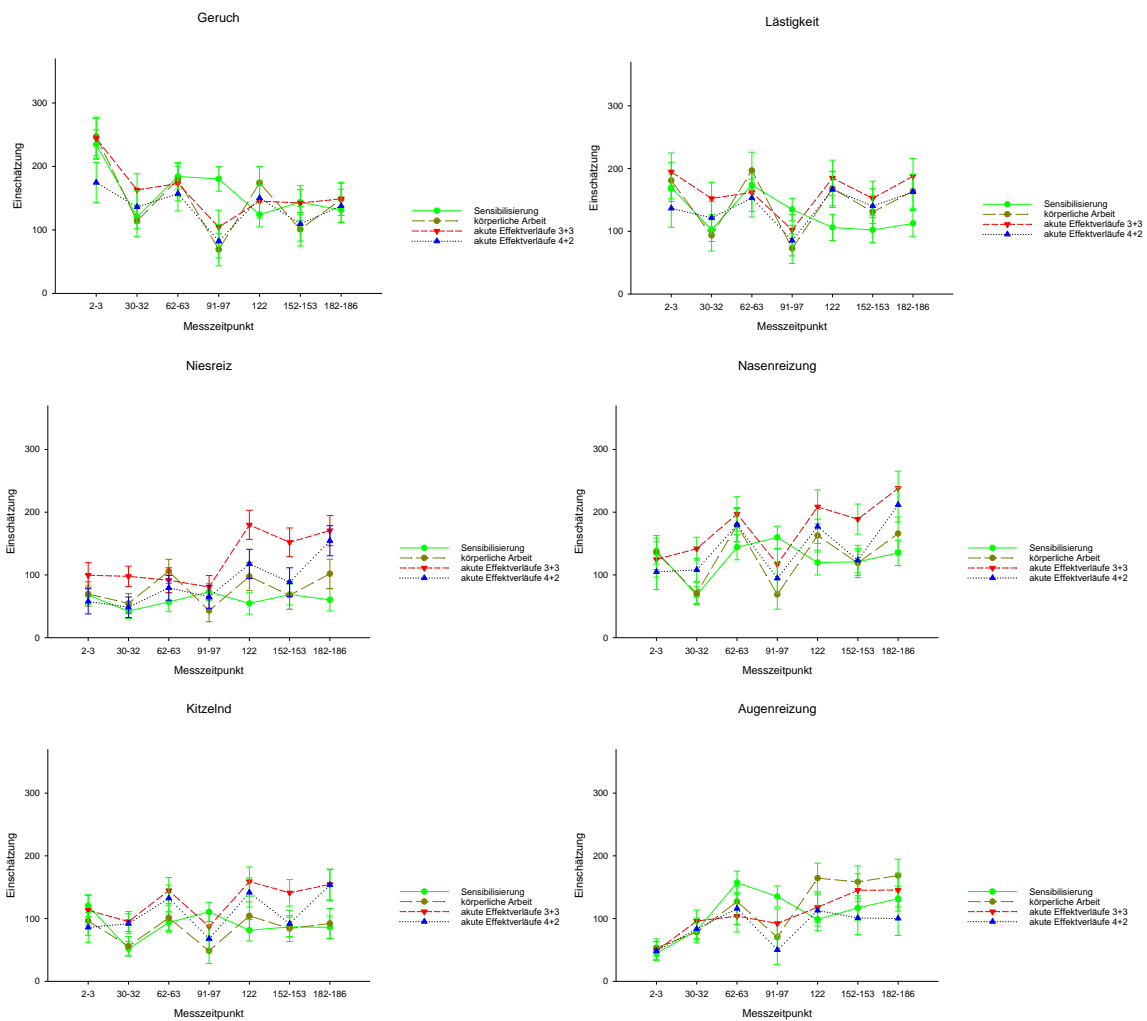


Abb. 16 Repräsentative Zeitverläufe der LMS-Einschätzungen in den Expositionsbedingungen der einzelnen Experimente

Man erkennt deutlich den Trend, der in der gemeinsamen Analyse aller Experimente gefunden wurde (vgl. Abb. 3), für die Geruchseinschätzung und die Lästigkeitseinschätzung in den meisten Experimenten (Ausnahme: leichte Abweichungen am Ende der Exposition im Experiment „Sensibilisierung“). Die Zunahme der unspezifischen Nasenreizung zum Ende der analysierten 180-minütigen Expositionszeit sind in erster Linie auf die Experimente „Akute Effektverläufe 3+3“ und „Akute Effektverläufe 4+2“ zurückzuführen. Die Zunahme der Nasenreizung könnte daher eventuell mit der körperlichen Belastung zu tun haben. Bei der Augenreizung zeigt sich bei allen Experimenten (mehr oder weniger deutlich) eine Sättigungskurve.

4.2.1.2.2 Swedish Performance Evaluation Scale (SPES)

Bei der Symptomeinschätzung zeigt sich multivariat kein Effekt des Faktors Experiment, wohl aber eine Interaktion zwischen dem Faktor Experiment und dem Faktor Expositionsdauer ($F_{(126,315)} = 2,2$; $p \leq 0,001$). Auch bei der Analyse der Zwischensubjekteffekte zeigt sich kein signifikanter Effekt des Faktors Experiment. Die Interaktion zwischen dem Faktor Experiment und dem Faktor Expositionsdauer wird bei allen Symptomangaben (bis auf respiratorische Symptome) signifikant. Die Zunahme der berichteten nasalen Symptome zum Ende der analysierten 180-minütigen Expositionszeit ist wie bei den LMS-Ratings in erster Linie auf die Experimente „Akute Effektverläufe 3+3“ und „Akute Effektverläufe 4+2“ zurückzuführen. Die Zeitverläufe der okularen Symptome ähneln denen der Augenreizung (LMS).

4.2.1.2.3 Befindensskalierung

Bei der Befindens-Einschätzung zeigt sich multivariat kein Effekt des Faktors Experiment, wohl aber eine Interaktion des Faktors Experiment mit dem Faktor Expositionsdauer ($F_{(72,369)} = 3,1$; $p \leq 0,001$). Bei der Analyse der Zwischensubjekteffekte zeigt sich kein Einfluss des Faktors Experiment.

Die Interaktion des Faktors Experiment mit dem Faktor Expositionsdauer wird für alle vier Einschätzungen signifikant. Ein systematischer Zusammenhang ist nicht erkennbar.

4.2.1.3 *Ergebnisse der Lidschlussfrequenz im Vergleich der Experimente (Kontroll- und Experimentalbedingungen)*

Auch an dieser Stelle werden, wie bereits in Abschnitt „4.1.3.2 Lidschlussfrequenz“, die Lidschlussinformationen aus der ersten und der letzten Erfassungssituation der jeweils betrachteten ExpoLab-Phase modelliert, da es keine anderen Gemeinsamkeiten bei den Lidschlussmessungen der verschiedenen Experimente gibt, die eine zusammenfassende Auswertung gestatten. Stellt man diese Informationen in der bereits bekannten Auflösung aus zwei 5-min-Intervallen pro Erfassungssituation dar, so ergibt sich in einer erweiterten Darstellung der Datensituation Abb. 17, in der die Daten aus dem Experiment „körperliche Arbeit“ und dem Experiment „Akute Effektverläufe 4+2“ aufgesplittet wurden. Die Daten des Experiments „körperliche Arbeit“ wurden getrennt dargestellt für den Experimentteil ohne und mit Ergometrie und die Daten des Experiments „Akute Effektverläufe 4+2“ einmal nur für die ersten vier Stunden (Vormittag-Abschnitt des Experiments; nach 4h) und einmal komplett

für die gesamten sechs Stunden inklusive des Nachmittag-Abschnitts (nach 6h). Die Darstellung der Daten in Abb. 17 weist bereits darauf hin, welche Vergleiche zwischen experimentellen Situationen im Folgenden modelliert werden sollen.

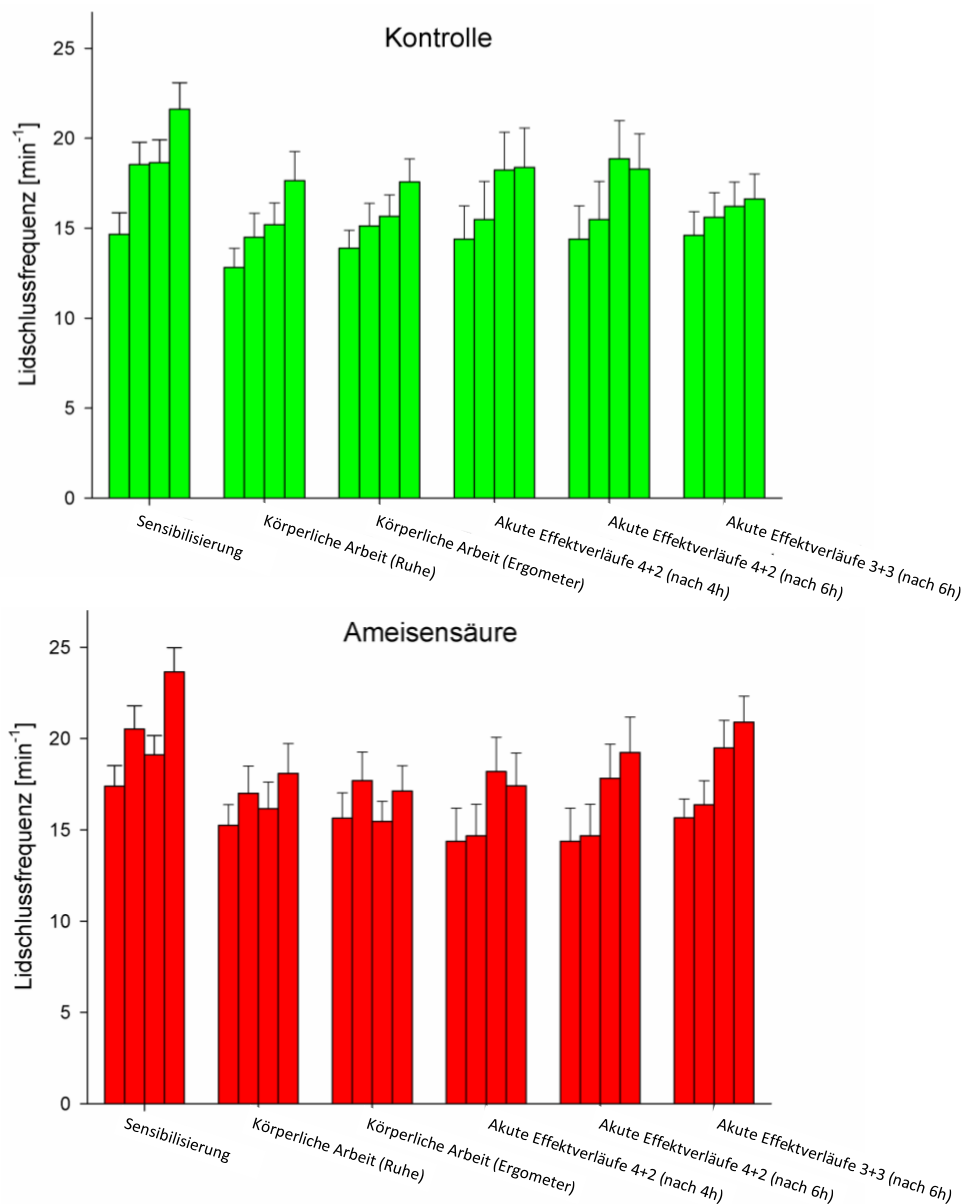


Abb. 17 Lidschlussfrequenzen der VPs (Mittel \pm SE) zu Anfang und zum Ende der jeweiligen ExpoLab-Phasen bei Exposition gegenüber Raumluft (Kontrolle) (Abb. 17a) und Ameisensäure (Abb. 17b) für die Experimente „Sensibilisierung“, „körperliche Arbeit“, „Akute Effektverläufe 3+3“ und „Akute Effektverläufe 4+2“, maximale Auflösung der Daten, basierend auf je zwei 5-min-Intervallen zu Beginn und zum Ende der ExpoLab-Phasen

Grundsätzlich fällt auf, dass die mittleren Lidschlussfrequenzen im Experiment „Sensibilisierung“ sowohl im KontrollszENARIO wie auch bei Ameisensäureexposition höher liegen als die Mittelwerte der anderen Experimente. Dies hängt mit den „AllergikerInnen“ in

der Stichprobe des Moduls „Sensibilisierung“ zusammen (vgl. 1. Zwischenbericht). Die Lidschlussdaten der restlichen Experimente wirken in dieser Darstellung recht ähnlich – abgesehen davon, dass die Werte der 6-stündigen Experimente am Ende höher liegen als die der 4-stündigen. Aufgrund der speziellen Struktur der Daten in der obigen Grafik (teilweise ineinander liegende Abschnitte des gleichen Experiments („Akute Effektverläufe 4+2“), teilweise Wiederholungsmessungen an denselben Personen (Experiment „körperliche Arbeit“), teilweise unabhängige Stichproben, da aus verschiedenen Experimenten), können bzw. sollten nur jeweils bestimmte Teilmengen der vorgestellten feinkörnigen Lidschlussdaten aus den vier verschiedenen Experimenten gemeinsam analysiert werden. Zum einen hat dies logische Gründe, weil teilweise zwischen den einzelnen Experimenten mehr als ein Einflussfaktor wechselte (z.B. Erfassung während aktivem Task (Mackworth-Uhr) vs. passivem Task (Naturkundefilm) oder Ergometrie während des Experiments vs. keine Ergometrie, Erfassung während ansteigender Expositionsflanke vs. Erfassung während absteigender Flanke), zum anderen gibt es statistische Gründe, weil z.B. in einem gemeinsamen statistischen Modell nicht die Daten aus einem Experiment mit zweifacher Wiederholungsmessung (Daten aus Experiment „körperliche Arbeit“ mit und ohne Ergo) zusammen mit den Daten aus dem Experiment „Sensibilisierung“ mit jeweils nur einer Messung pro Expositionsstufe (Experiment „Sensibilisierung“ komplett ohne Ergo) analysiert werden können.

Damit bleiben als mögliche und sinnvolle zusammenfassende Vergleichsanalysen von Datensätzen:

- 1) Experiment „Sensibilisierung“ vs. Experiment „körperliche Arbeit“ ohne Ergo (Daten stammen jeweils aus 4-stündigen Experimenten ohne Ergometrie und gestatten den Vergleich des Einflussfaktors aktiver (Experiment „Sensibilisierung“) vs. passiver (Experiment „körperliche Arbeit“) Task)
- 2) Experiment „körperliche Arbeit“ mit Ergo vs. Experiment „Akute Effektverläufe 4+2“, nach 4h (Daten stammen aus einem 4-stündigen Experiment (Experiment „körperliche Arbeit“) bzw. Experimentteil (Experiment „Akute Effektverläufe 4+2“) mit Ergometrie und gestatten den Vergleich des Einflussfaktors passiver Task mit ansteigender Expositionsflanke (Experiment „körperliche Arbeit“) vs. aktiver Task mit abfallender Expositionsflanke (Experiment „Akute Effektverläufe 4+2“))

- 3) Experiment „Akute Effektverläufe 4+2“ 6h-Gesamtexperiment vs. Experiment „Akute Effektverläufe 3+3“ 6h-Gesamtexperiment (Daten stammen aus insgesamt 6-stündigen Experimenten mit Ergometrie und gestatten den Vergleich des Einflussfaktors „4-stündige alternierende MAK-Exposition (4 Spitzen) mit nachfolgender konstanter MAK-Exposition“ vs. „3-stündige alternierende MAK-Exposition (3 Spitzen) mit nachfolgender konstanter MAK-Exposition“).

Die restlichen, statistisch möglichen und logisch sinnvollen Vergleiche (Experiment „körperliche Arbeit“ mit vs. ohne Ergo und Experiment „Akute Effektverläufe 4+2“ nach 4h vs. Experiment „Akute Effektverläufe 4+2“ 6h-Gesamtdauer) wurden bereits in den einzelnen Auswertungen der jeweiligen Experimente in den vorliegenden Zwischenberichten behandelt.

Es ergaben sich für die oben genannten drei Vergleiche der jeweiligen Experimente auf Basis der Lidschlusswerte aus den Kontroll-Bedingungen die folgenden Resultate:

Experiment „Sensibilisierung“ vs. Experiment „körperliche Arbeit“ ohne Ergo:

Es konnten die Datensätze von 85 Personen (52 w, 33 m) miteinander verglichen werden. Der Haupteffekt Aufenthaltsdauer im ExpoLab war signifikant ($F_{(1,81)} = 18,1$; $p \leq 0,001$) und die Lidschlusswerte stiegen im Verlauf dieser 4 Stunden an von 15,0 [min^{-1}] auf 18,1 [min^{-1}]. Weiterhin stieg die Lidschlussfrequenz während eines jeweiligen 30- bzw. 25-minütigen Erfassungsbereichs (Mackworth-Uhr (Experiment „Sensibilisierung“) bzw. Naturkundefilm (Experiment „körperliche Arbeit“)) statistisch signifikant an ($F_{(1,81)} = 30,0$; $p \leq 0,001$). Die Lidschlusswerte betragen im Mittel 15,2 [min^{-1}] zu Beginn eines Erfassungsbereichs und 17,9 [min^{-1}] am Ende. Die (gemittelten) Ergebnisse beider Experimente in den Kontrollbedingungen unterschieden sich nicht auf dem 5 % - Niveau; der p-Wert lag bei 0,093. Die eingesetzten Tasks (aktiv vs. passiv) zeigten in den verglichenen Kontrollsituationen keine signifikant unterschiedlichen Effekte.

Experiment „körperliche Arbeit“ mit Ergo vs. Experiment „Akute Effektverläufe 4+2“, nach 4h:

Es konnten die Datensätze von 52 Personen (32 w, 20 m) miteinander verglichen werden. Der Haupteffekt Aufenthaltsdauer im ExpoLab war signifikant ($F_{(1,48)} = 13,8$; $p \leq 0,001$) und die Lidschlusswerte stiegen im Verlauf dieser 4 Stunden an von 14,2 [min^{-1}] auf 17,1 [min^{-1}]. Weiterhin stieg die Lidschlussfrequenz während eines jeweiligen 25-minütigen Erfassungsbereichs (Naturkundefilm plus Ergometrie (Experiment „körperliche Arbeit“) bzw.

Mackworth-Uhr (Experiment „Akute Effektverläufe 4+2“) statistisch signifikant an ($F_{(1,48)} = 6,2$; $p \leq 0,05$). Die Lidschlusswerte betragen im Mittel $15,2 \text{ [min}^{-1}]$ zu Beginn eines Erfassungsbereichs und $16,1 \text{ [min}^{-1}]$ am Ende. Die Lidschlusswerte von Männern und Frauen unterschieden sich – insgesamt gesehen – signifikant und dieser Unterschied war in den beiden Experimenten unterschiedlich groß. Für den Haupteffekt Geschlecht ergab sich: $F_{(1,48)} = 6,9$; $p \leq 0,05$; die mittlere Lidschlussfrequenz der Frauen betrug $18,2 \text{ [min}^{-1}]$ und die der Männer $13,1 \text{ [min}^{-1}]$. Im Experiment „körperliche Arbeit“ gab es nur einen geringen Unterschied zwischen den Geschlechtern (Frauen $15,6 \text{ [min}^{-1}]$, Männer $15,5 \text{ [min}^{-1}]$). Dagegen betrug in den ersten vier Stunden des Experiments „Akute Effektverläufe 4+2“ die mittlere Lidschlussfrequenz für die Frauen $20,9 \text{ [min}^{-1}]$ und für die Männer $10,6 \text{ [min}^{-1}]$. Für diese signifikante Interaktion gilt: $F_{(1,48)} = 6,8$; $p \leq 0,05$. Die (gemittelten) Ergebnisse beider Experimente in den Kontrollbedingungen waren nicht signifikant unterschiedlich. Die eingesetzten Tasks (aktiv vs. passiv) mit dem jeweiligen Verlauf der Expositionsflanken (aktiv: absteigend, passiv: ansteigend) zeigten in den verglichenen Kontrollsituationen keine signifikant unterschiedlichen Effekte.

Experiment „Akute Effektverläufe 4+2“, 6h-Gesamtexperiment vs. Experiment „Akute Effektverläufe 3+3“, 6h-Gesamtexperiment:

Es konnten die Datensätze von 52 Personen (27 w, 25 m) miteinander verglichen werden. Der Haupteffekt Aufenthaltsdauer im ExpoLab war signifikant ($F_{(1,48)} = 14,2$, $p \leq 0,001$) und die Lidschlusswerte stiegen im Verlauf dieser 4 Stunden an von $14,7 \text{ [min}^{-1}]$ auf $17,1 \text{ [min}^{-1}]$. Die Lidschlusswerte von Männern und Frauen unterschieden sich – insgesamt gesehen – signifikant. Die mittlere Lidschlussfrequenz der Frauen betrug $19,3 \text{ [min}^{-1}]$ und die der Männer $12,6 \text{ [min}^{-1}]$ mit $F_{(1,48)} = 10,7$; $p \leq 0,01$. Die (gemittelten) Ergebnisse beider Experimente in den Kontrollbedingungen waren nicht signifikant unterschiedlich. Die eingesetzten Zeitschemata: 4 h plus 2h und 3h plus 3h zeigten in den verglichenen Kontrollsituationen keine signifikant unterschiedlichen Effekte.

Auf Basis der Lidschlusswerte aus den Expositionsbedingungen ergaben sich die folgenden Resultate für die oben genannten drei Vergleiche der jeweiligen Experimente:

Experiment „Sensibilisierung“ vs. Experiment „körperliche Arbeit“ ohne Ergo:

Es konnten die Datensätze von 85 Personen (52 w, 33 m) miteinander verglichen werden. Der Haupteffekt Aufenthaltsdauer im ExpoLab war in diesem Vergleich nicht signifikant, aber seine Interaktion mit dem Faktor Geschlecht ($F_{(1,81)} = 4,0$; $p \leq 0,05$). Bei den Frauen stieg die Lidschlussfrequenz während der 4 Stunden im ExpoLab an von 18,2 [min^{-1}] auf 21,0 [min^{-1}], während sie bei den Männern fast gleich blieb mit 16,7 [min^{-1}] und 16,5 [min^{-1}]. Während eines jeweiligen 30- bzw. 25-minütigen Erfassungsbereichs (Mackworth-Uhr (Experiment „Sensibilisierung“) bzw. Naturkundefilm (Experiment „körperliche Arbeit“) stieg die Lidschlussfrequenz an von 16,7 [min^{-1}] auf 19,4 [min^{-1}], ($F_{(1,81)} = 30,2$; $p \leq 0,001$). Die Ergebnisse beider Experimente unterschieden sich nicht auf dem 5 % - Niveau; der p-Wert lag bei 0,072; die Unterschiede, die in Abb. 17, Teil b) sichtbar sind, führten nicht zu einer Signifikanz. Die eingesetzten Tasks (aktiv vs. passiv) zeigten in den verglichenen Expositionssituationen keine signifikant unterschiedlichen Effekte.

Experiment „körperliche Arbeit“ mit Ergo vs. Experiment „Akute Effektverläufe 4+2“, nach 4h: Es konnten die Datensätze von 52 Personen (32 w, 20 m) miteinander verglichen werden. Der Haupteffekt Aufenthaltsdauer im ExpoLab war signifikant ($F_{(1,48)} = 4,6$; $p \leq 0,05$) und die Lidschlusswerte stiegen im Verlauf dieser 4 Stunden an von 14,9 [min^{-1}] auf 16,5 [min^{-1}]. Zusätzlich gab es in dieser Situation eine Interaktion zwischen der Aufenthaltsdauer im Expolab und den beiden Experimenten; während im Experiment „körperliche Arbeit“ mit passivem Task „Filmbetrachtung“ die Lidschlussfrequenz fast konstant blieb (16,0 [min^{-1}] vs. 15,8 [min^{-1}]), stieg sie im Experiment „Akute Effektverläufe 4+2“ mit aktivem Task „Mackworth-Uhr“ in den betrachteten 4 Stunden an von anfänglich 13,7 [min^{-1}] auf 17,1 [min^{-1}] ($F_{(1,48)} = 5,7$; $p \leq 0,05$). Während eines jeweiligen 25-minütigen Erfassungsbereichs (Naturkundefilm plus Ergometrie (Experiment „körperliche Arbeit“) bzw. Mackworth-Uhr (Experiment „Akute Effektverläufe 4+2“)) gab es keine statistisch signifikante Veränderung. Die Lidschlusswerte von Männern und Frauen unterschieden sich – insgesamt gesehen – signifikant; die mittlere Lidschlussfrequenz der Frauen betrug 18,9 [min^{-1}] und die der Männer 12,4 [min^{-1}] ($F_{(1,48)} = 12,9$; $p \leq 0,001$). Die (gemittelten) Ergebnisse beider Experimente in den Experimentalbedingungen waren nicht signifikant unterschiedlich. Die vorgefundene Datenlage könnte ein Hinweis darauf sein, dass der aktive Task Mackworth-Uhr, der von den VPs kontinuierlich beobachtet und bearbeitet werden muss und dessen korrekte Bearbeitung ständig überwacht werden kann, die Lidschlussfrequenz der VPs im Verlauf von vier Stunden und mehreren Wiederholungen ansteigen lässt, während der im Experiment „körperliche

Arbeit“ eingesetzte passive Task der Filmbetrachtung, bei dem die korrekte Ausführung nur näherungsweise kontrolliert werden kann, keine Erhöhung hervorruft. Es ist jedoch auch möglich, dass es sich um einen Stichprobeneffekt handelt, da an den beiden Experimenten jeweils vollkommen andere Versuchspersonen teilnahmen.

Experiment „Akute Effektverläufe 4+2“, 6h-Gesamtexperiment vs. Experiment „Akute Effektverläufe 3+3“, 6h-Gesamtexperiment:

Es konnten die Datensätze von 52 Personen (27 w, 25 m) miteinander verglichen werden. Der Haupteffekt Aufenthaltsdauer im ExpoLab war signifikant ($F_{(1,48)} = 36,1$; $p \leq 0,001$) und die Lidschlusswerte stiegen im Verlauf dieser 4 Stunden an von 14,9 [min^{-1}] auf 19,0 [min^{-1}]. Während eines jeweiligen 25-minütigen Erfassungsbereichs stieg die Lidschlussfrequenz an von 16,5 [min^{-1}] auf 17,5 [min^{-1}], ($F_{(1,48)} = 5,0$; $p \leq 0,05$). Die Lidschlusswerte von Männern und Frauen unterschieden sich – insgesamt gesehen – signifikant; die mittlere Lidschlussfrequenz der Frauen betrug 20,4 [min^{-1}] und die der Männer 13,6 [min^{-1}] ($F_{(1,48)} = 14,1$; $p \leq 0,001$). Die (gemittelten) Ergebnisse beider Experimente in den Experimentalbedingungen waren nicht grundsätzlich signifikant unterschiedlich. Die eingesetzten Expositionsschemata: „4-stündige alternierende MAK-Exposition (4 Spitzen) mit nachfolgender konstanter MAK-Exposition“ vs. „3-stündige alternierende MAK-Exposition (3 Spitzen) mit nachfolgender konstanter MAK-Exposition“ zeigten in den verglichenen Expositionssituationen keine signifikant unterschiedlichen Effekte.

4.2.1.4 Ergebnisse der restlichen physiologischen Messungen im Vergleich der Experimente (Kontroll- und Experimentalbedingungen)

4.2.1.4.1 Nasale Lavage Flüssigkeit (NALF)

Um die Vergleichbarkeit der Messungen über die verschiedenen Experimente und damit unterschiedliche Stichproben zu überprüfen, wurden zunächst die Messungen ohne Ameisensäure-Expositionen verglichen. Weder die Vergleiche der Kontrollbedingungen noch die Vergleiche der Messungen vor den Expositionen zeigten signifikante Unterschiede der Experimente für den Parameter HMGB1 (siehe Abb. 18, Abb. 19, Abb. 20). Auch bei den anderen Parametern ergaben diese Analysen keine systematischen Unterschiede in der Höhe der gemessenen Konzentrationen oder der Anzahl der Proben, die unterhalb der Nachweisgrenze (NWG) lagen.

Die Effekte der anderen Einflussfaktoren, die im Rahmen dieses Forschungsvorhabens untersucht wurden, sind bereit in den Zwischenberichten dargestellt, sollen jedoch hier noch einmal in einer Übersicht gezeigt werden. Auf eine Kontrolle von Ausreißern (siehe Abb. 18 bis Abb. 20) wurde bewusst verzichtet, da die eingesetzten, nicht-parametrischen Verfahren robust gegenüber derartigen Extremwerten sind.

Das Alarmine HMGB1 wurde vor allen durch Befunde, die mit dem Modul „Sensibilisierung“ in Zusammenhang stehen, in das Panel der biochemischen Effektbiomarker aufgenommen. In der NALF von Patient*innen mit chronischer (Min et al. 2015) oder allergischer Rhinosinusitis (Salpietro et al. 2013) wurden erhöhte Werte diese Proteins berichtet. In den Experimenten des Moduls „Allergie“ waren sowohl die Konzentration von HMGB1 als auch von Substanz P signifikant durch die Exposition gegenüber Ameisensäure erhöht (siehe Abb. 18).

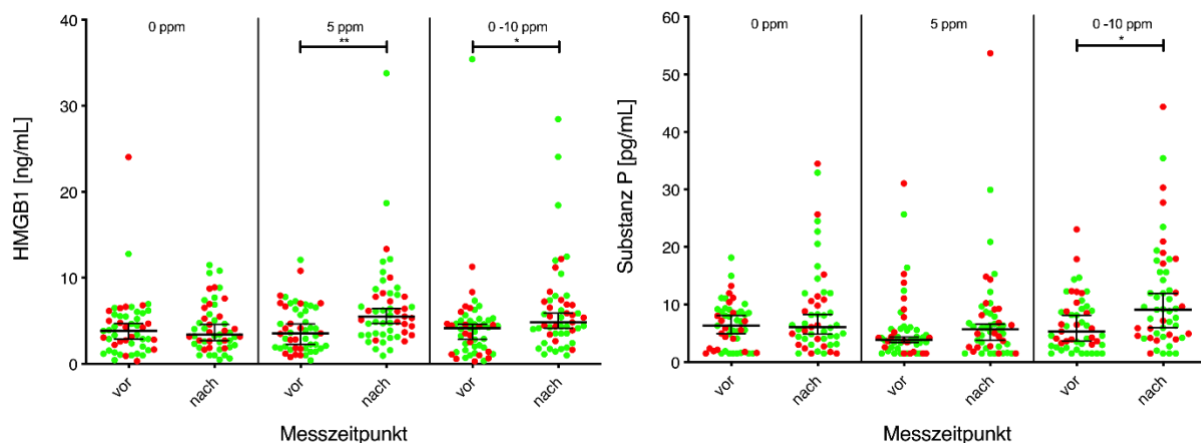


Abb. 18 Effekt der Ameisenkonzentration auf die Konzentration der biochemischen Effektmarker HMGB1 und Substanz P in der NALF für Kontrollpersonen (grün) und Heuschnupfenallergiker*innen (rot). *: $p \leq 0,05$; **: $p \leq 0,01$ (Dunn's Multiple Comparisons Test nach Friedman Test)

Abb. 18 zeigt klar die Konzentrationsabhängigkeit der Veränderung, verdeutlicht allerdings auch, dass der Faktor „Allergie“ keinen Einfluss auf diese Effekte nimmt. Bei der varianzanalytischen Auswertung zeigte sich für beide biochemischen Marker kein signifikanter Haupteffekt und auch keine signifikante Interaktion mit den beiden Within-subject Faktoren und dem Between-subject Faktor Allergiestatus. Eine Effektverstärkung durch die untersuchte Prädisposition einer Sensibilisierung der oberen Atemwege und der Konjunktiva bei einem Teil des untersuchten Kollektivs wurde nicht beobachtet.

Bei den Experimenten zum Modul „Körperliche Arbeit“ konnte nur der Effekt von Ameisensäure auf den Marker HMGB1 repliziert werden. Hier zeigte sich auch ein deutlicher Einfluss des Faktors körperliche Arbeit (Workload), wie Abb. 19 verdeutlicht.

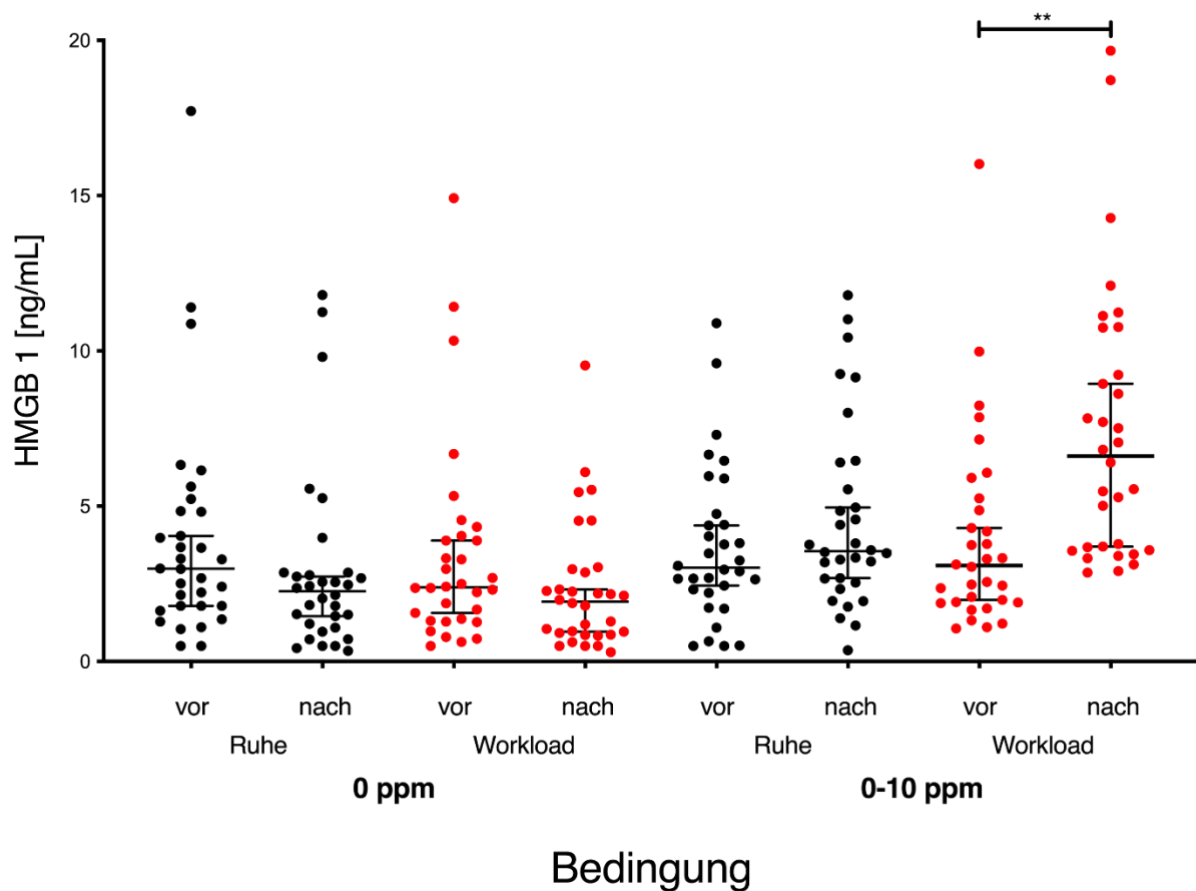


Abb. 19 Effekt der Ameisenkonzentration und der körperlichen Arbeit (Workload) auf die Konzentration des biochemischen Effektmarkers HMGB1 in der NALF der Proband*innen in Ruhe (schwarz) und mit individuell angepasster Belastung (rot). **: $p \leq 0,01$ (Dunn's Multiple Comparisons Test nach Friedman Test)

Werden diese Daten ebenfalls varianzanalytisch ausgewertet, so ergibt sich eine signifikante Interaktion der drei Within-subject Faktoren (Interaktion $F_{(1,31)} = 7,5$; $p \leq 0,01$; partielles $\eta^2 = 0,19$). Diese Interaktion der drei Faktoren ist in Abb. 20 dargestellt.

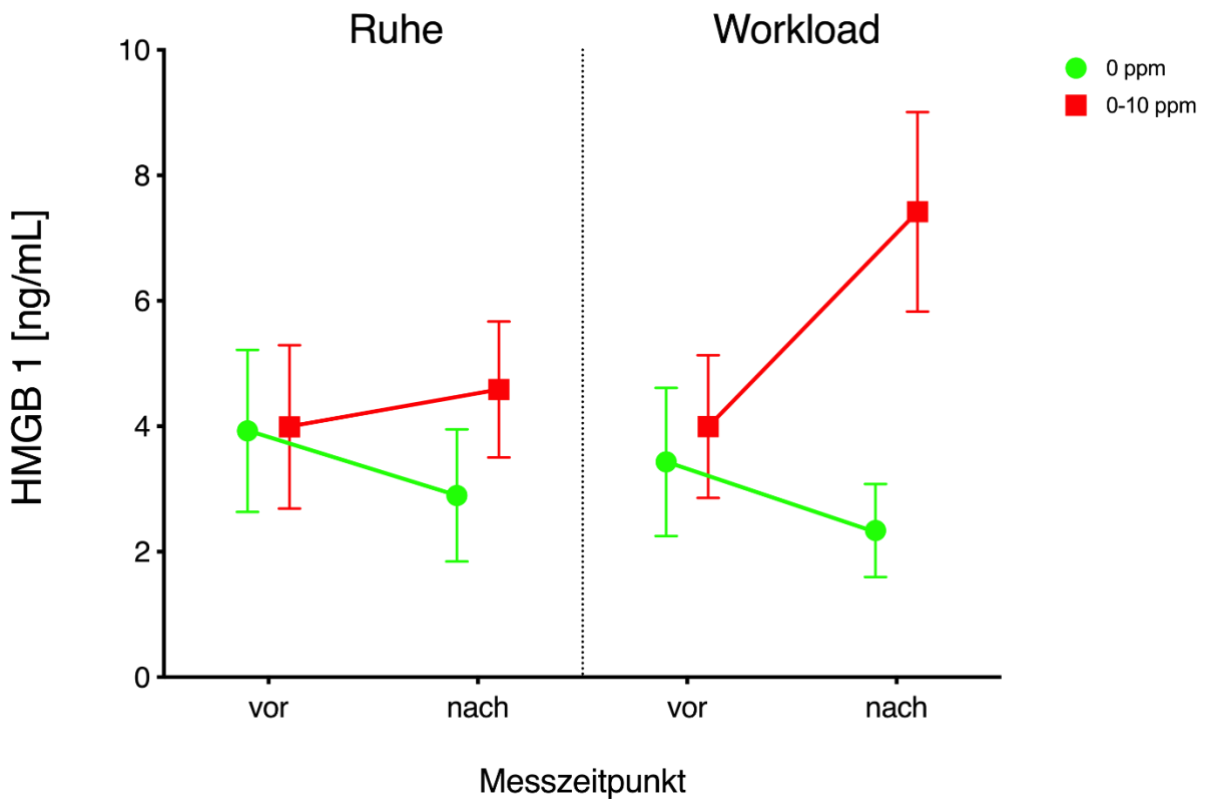


Abb. 20 Grafische Darstellung der signifikanten Interaktion der drei Faktoren Konzentration, Expositionsdauer (Messzeitpunkt) und körperlichen Arbeit (Workload) auf die Konzentration von HMGB1 in der NALF der Proband*innen, die diese beiden Expositionsszenarien mit und ohne individuell angepasste körperliche Belastung, durch die das Atemminutenvolumen systematisch erhöht wurde.

Derartige Effektverstärkungen durch das erhöhte Atemminutenvolumen wurden bei den anderen biochemischen Indikatoren für sensorische Irritationen nicht gefunden.

Im letzten Modul „Akute Effektverläufe“ wurde erneut das Set der vier biochemischen Marker (siehe Tabelle 2) eingesetzt und erneut zeigten sich nur für HMGB1 expositionsabhängige Effekte. Durch die in Tabelle 1 beschriebenen Unterschiede können die Experimente nicht zusammenfassend analysiert werden. Abb. 21 zeigt den Einfluss der Expositionsszenarien auf die Konzentration von HMGB1 in der NALF im Experiment „Akute Effektverläufe 3+3“ und Experiment „Akute Effektverläufe 4+2“.

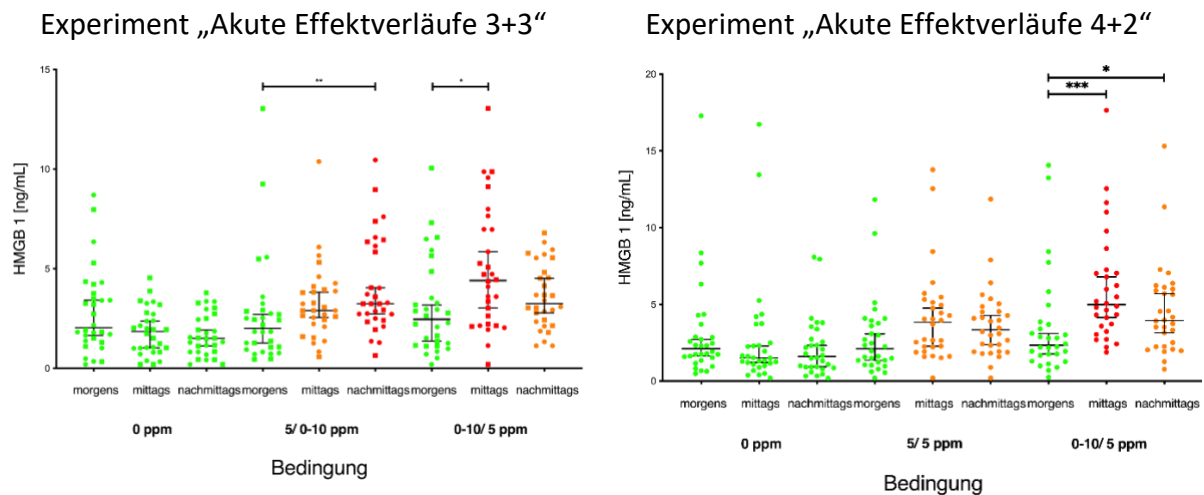


Abb. 21 Ergebnisse der biochemischen Analysen der NALF für die Experimente „Akute Effektverläufe 3+3“ und „Akute Effektverläufe 4+2“ des Moduls „Akute Effektverläufe“. In Grün sind Messungen ohne Exposition darstellt, Orange markiert Messungen nach konstanten Expositionen gegenüber 5 ppm Ameisensäure und in Rot sind Messungen darstellt, die nach Phasen mit Spitzenexpositionen (0-10 ppm) genommen wurden. * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$ (Dunn's Multiple Comparisons Test nach Friedman Test)

In den Kontrollbedingungen gibt es, wie schon in allen vorherigen Experimenten beobachtet, keinen Anstieg der HMBG1 Konzentrationen in der NALF der Proband*innen. In beiden Experimenten war nicht die Expositionsdauer, sondern die Expositionsphase mit Konzentrationsspitzen effektverstärkend. Bei einer konstanten Exposition gegenüber 5 ppm zeigte sich ein Anstieg der HMBG1 Konzentration bereits nach drei (Experiment „Akute Effektverläufe 3+3“) bzw. vier Stunden (Experiment „Akute Effektverläufe 4+2“), der sich nach weiteren zwei Stunden (Experiment „Akute Effektverläufe 4+2“) nicht verstärkte. Nach drei Expositionsspitzen in der zweiten Expositionshälfte (Experiment „Akute Effektverläufe 3+3“) ist die HMBG1 Konzentration dann signifikant erhöht. Folgt eine weitere, 2-stündige Phase mit konstanter 5 ppm Exposition, so zeigt sich keine weitere Erhöhung und die HMBG1 Konzentration verringert sich geringfügig (Experiment „Akute Effektverläufe 4+2“). Dass die beobachteten Veränderungen nicht signifikant werden, liegt möglicherweise am Stichprobenumfang, der pandemiebedingt nur bei 30 Proband*innen lag und zu einer größeren Streuung der Messwerte führte. Für den direkten Vergleich der Effektstärken, die in den Experimenten „körperliche Arbeit“ und „Akute Effektverläufe 4+2“ für vergleichbare Expositionsszenarien beobachtet wurden, kann eine angepasste Form der standardisierten Effektstärken-Berechnung genutzt werden (Lakens 2013). Durch den größeren Stichprobenumfang, eine höhere Korrelation zwischen den Messungen und geringere

Streuungen lag diese standardisierten Effektstärken im Modul „Allergie“ bei $d_{RM, pool} = 1.24$ (95%-KI: 0.47 – 1.32) und im Experiment „Akute Effektverläufe 4+2“ aus dem Modul „Akute Effektverläufe“ lag dieser Wert bei $d_{RM, pool} = 0.45$ (95%-KI: -0.17 – 0.86).

Zusammenfassend legen die Experimente des Moduls „Akute Effektverläufe“ nahe, dass weniger die Expositionsdauer (4 vs. 6 Stunden), sondern eher die Expositionsspitzen eine effektverstärkende Wirkung haben.

4.2.1.4.2 Rhinometrie/Rhinomanometrie

Bei den Maßen aus Rhinometrie und Rhinomanometrie werden die Expositionsbedingungen (mit vs. ohne Ameisensäure) gemeinsam analysiert. Der Faktor Exposition wird mit in die Analyse aufgenommen. In der multivariaten Analyse zeigt sich ein signifikanter Effekt des Faktors Experiment ($F_{(15,414)} = 1,7; p \leq 0,05$). Außerdem werden in dieser Analyse die Interaktionen Messzeitpunkt x Experiment ($F_{(15,414)} = 4,4; p \leq 0,001$) und Exposition x Messzeitpunkt x Experiment ($F_{(15,414)} = 2,4; p \leq 0,01$) signifikant.

In den univariaten Analysen zeigt sich ein signifikanter Einfluss des Faktors Experiment auf die Größe MCA2 ($F_{(3,140)} = 3,0; p \leq 0,05$). Für MCA2 zeigen die post hoc Tests signifikante Unterschiede zwischen den Experimenten „körperliche Arbeit“ und „Akute Effektverläufe 4+2“, vgl. Abb. 22).

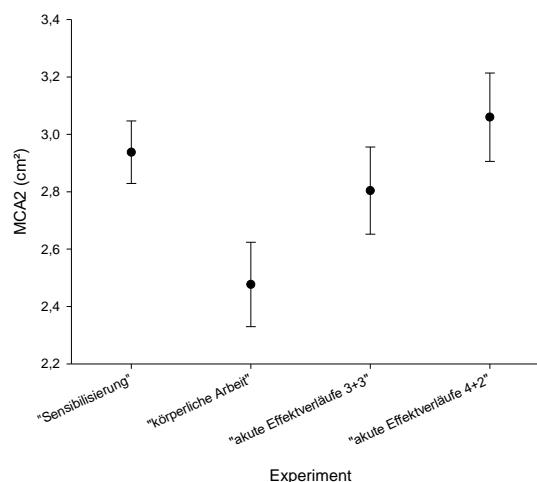


Abb. 22 Einfluss des Faktors Experiment auf die Messung von MCA2

Die Unterschiede zwischen Vor- und Nachmessung des nasalen Flows pro Szenario zeigt Abb. 23.

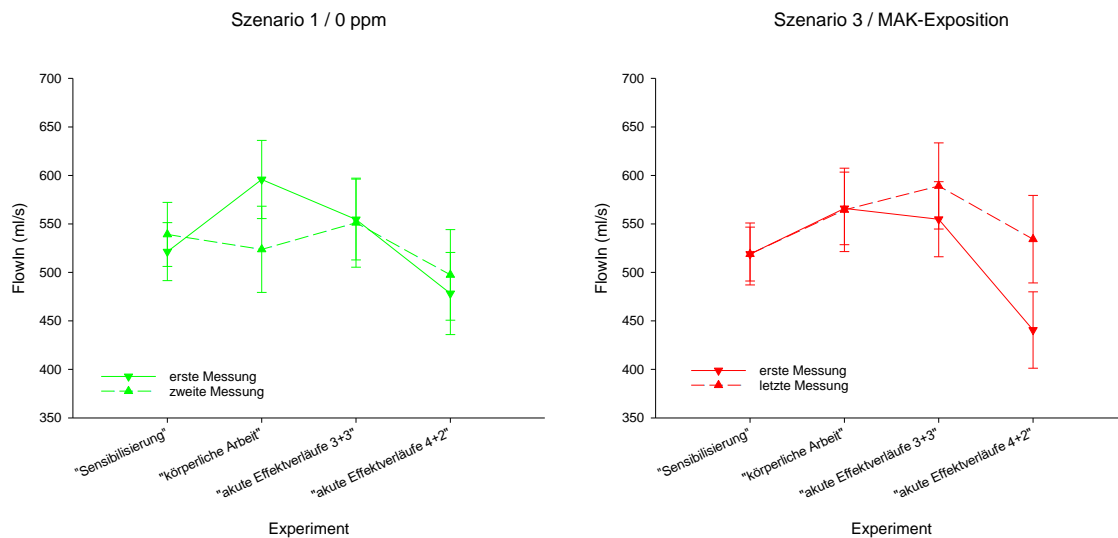


Abb. 23 Der nasale Flow in Abhängigkeit von Exposition (Szenario) und Messzeitpunkt (entsprechende Interaktion ist nicht signifikant)

Obwohl die Unterschiede nicht signifikant werden, liefert Abb. 23 einen Hinweis auf eine Auswirkung der Ameisensäure nach 6-stündiger Exposition (Abb. 23, rechts, Experimente „Akute Effektverläufe 3+3“ und „Akute Effektverläufe 4+2“).

4.2.1.4.3 Fraktioniertes exhalierendes Stickoxid (FeNO)

Wird der (Between-subjects) Faktor Experiment in der Analyse berücksichtigt, so zeigt sich, dass lediglich die Interaktion zwischen dem Faktor Messzeitpunkt und dem Faktor Experiment signifikant wird ($F_{(3,142)} = 8,4; p \leq 0,001$; vgl. Abb. 24). Während der FeNO-Wert im Experiment „Sensibilisierung“ in der Vormessung niedriger ist als in der Nachmessung, ist der Wert der Nachmessung im Experiment „Akute Effektverläufe 3+3“ niedriger als der der Vormessung (Post hoc). Der gleiche Unterschied im Experiment „Akute Effektverläufe 4+2“ wird im Post hoc Test knapp nicht signifikant.

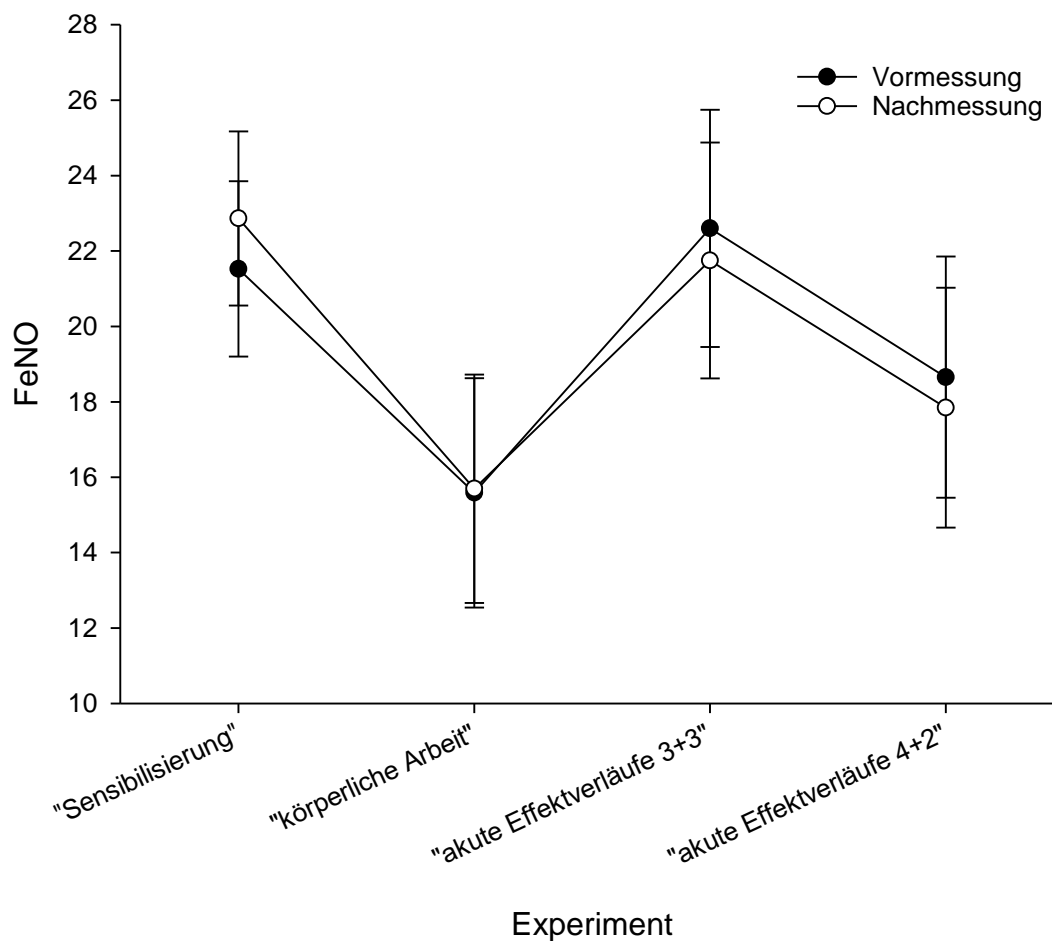


Abb. 24 FeNO-Werte in Vor- und Nachmessung der jeweiligen Experimente

Möglicherweise ist dieser Effekt eine Konsequenz der körperlichen Belastung (Experimente „Akute Effektverläufe 3+3“ und „Akute Effektverläufe 4+2“). Im Experiment „körperliche Arbeit“ wird der Mittelwert beider experimentellen Variationen (mit und ohne körperliche Belastung) gezeigt (die Unterschiede zwischen mit Belastung und ohne Belastung heben sich eventuell auf). Es wurde daher der Zwischensubjektfaktor Workload (mit vs. ohne Workload; zweistufig) in die Analyse mit aufgenommen. Da im Experiment „körperliche Arbeit“ der Faktor Workload als Innersubjektfaktor untersucht wurde, kann dieses Experiment in der Analyse nicht berücksichtigt werden und wird einzeln dargestellt. Ohne das Experiment „körperliche Arbeit“ zeigt sich eine deutliche Interaktion der Faktoren Workload und Messzeitpunkt ($F_{(1,112)} = 22,7$; $p \leq 0,001$; partielles $\eta^2 = 0,17$; vgl. Abb. 25). Der Faktor Exposition hat keinen signifikanten Einfluss, die Interaktion scheint also nur auf die körperliche

Arbeit zurückzuführen zu sein. In der Einzelanalyse des Experiments „körperliche Arbeit“ zeigt sich diese Interaktion allerdings nicht.

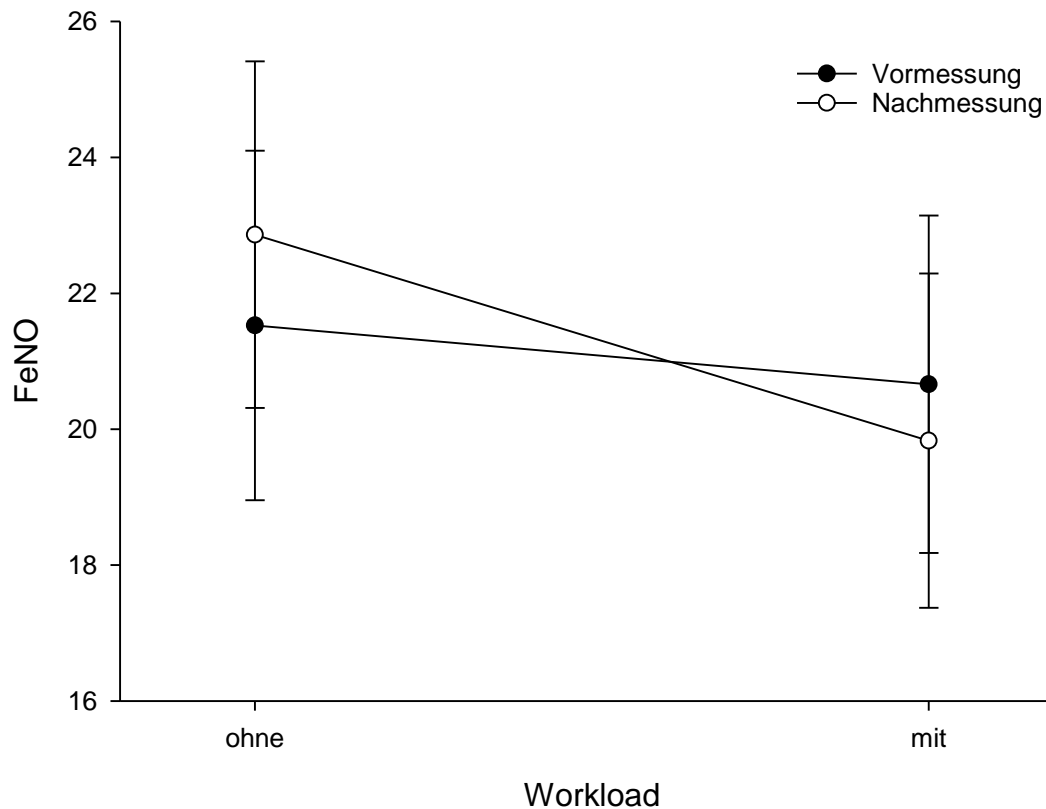


Abb. 25 Interaktion zwischen Messzeitpunkt und Workload für die FeNO-Werte

Im Experiment „körperliche Arbeit“ gab es keinen Unterschied zwischen Vor- und Nachmessung bei körperlicher Arbeit. Möglicherweise ist dieses Ausbleiben eines Effekts auf die FeNO-Werte auf die kürzere körperliche Arbeit in diesem Experiment (4*30 min, vgl. Tabelle 1) im Vergleich zu den anderen beiden Experimenten mit körperlicher Arbeit („Akute Effektverläufe 3+3“ und „Akute Effektverläufe 4+2“; 6*25 min, vgl. Tabelle 1) zurückzuführen. Nach körperlicher Anstrengung kommt es offenbar zu einer Abnahme des FeNO-Werts (Stensrud et al. 2016). Allerdings ist auch nicht ausgeschlossen, dass es sich um circadiane Unterschiede handeln könnte (etwas höherer FeNO-Wert am Nachmittag im Vergleich zum Morgen (Stark et al. 2007; Karvonen and Lehtimäki 2020)). Bei Kindern folgt der logarithmierte FeNO-Wert über den Tag einer cosinus-artigen Funktion (Mattes 2002). Der in dieser Analyse gefundene Unterschied ist zwar systematisch (hochsignifikant), aber auch sehr gering (1 ppb).

4.2.2 Vergleichende Darstellung experimenteller Variationen der Experimente (LMS)

Hier werden Kennwerte für die gesamte Expositionsdauer und jede experimentelle Variation verglichen. Die folgenden Abbildungen (Abb. 26, Abb. 27, Abb. 28) zeigen die mittleren Angaben der LMS-Ratings für jede Variation aller vier Experimente für alle Ameisensäure-Konzentrationen im Labor. Es gibt für jedes Experiment in der Abbildung ein Diagramm, bei dem die Variation des Experiments eingefärbt ist. Die anderen Angaben sind zur besseren Einordnung der Ergebnisse in grau dargestellt.

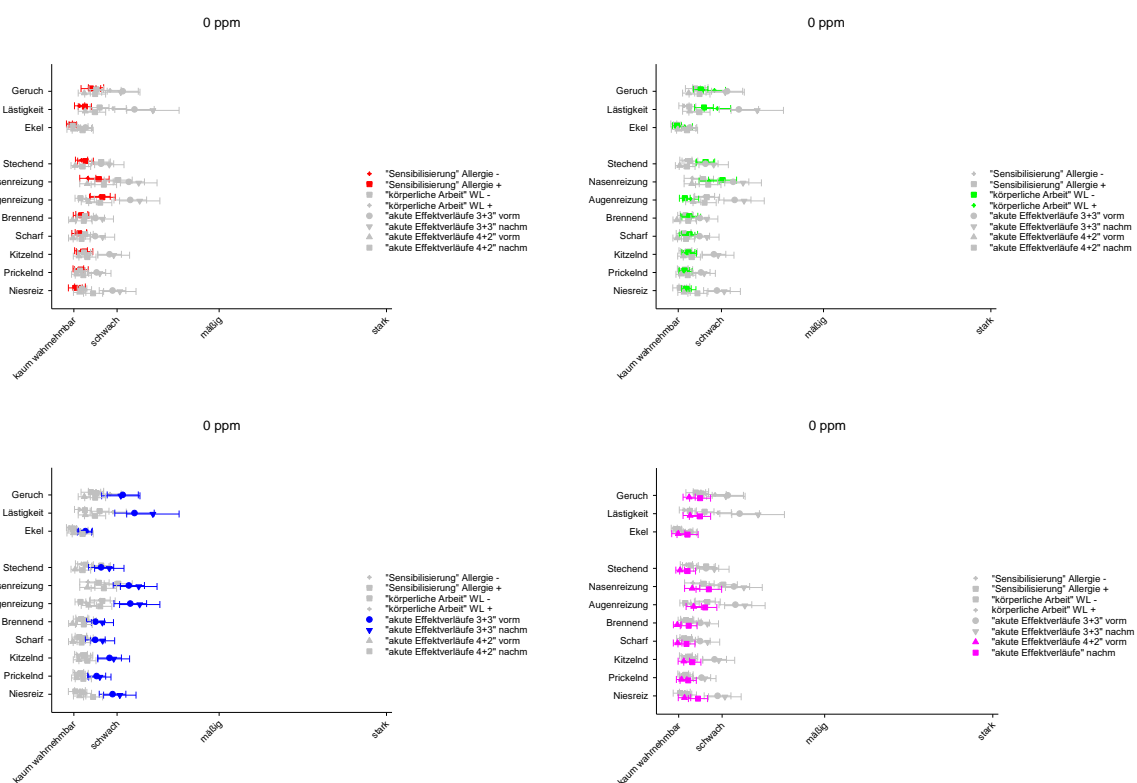


Abb. 26 Mittlere LMS-Ratings für alle experimentellen Variationen bei 0 ppm

Es fällt auf, dass die Ratings in der 0 ppm Exposition (vgl. Abb. 26) in beiden experimentellen Variationen von Experiment „Akute Effektverläufe 3+3“ höher sind als in den experimentellen Variationen der anderen Experimente, die sich in den Einschätzungen kaum unterscheiden. Die Versuchspersonen im Experiment „Akute Effektverläufe 3+3“ scheinen also „responsiver/empfindlicher“ zu sein (vgl. auch Abb. 12).

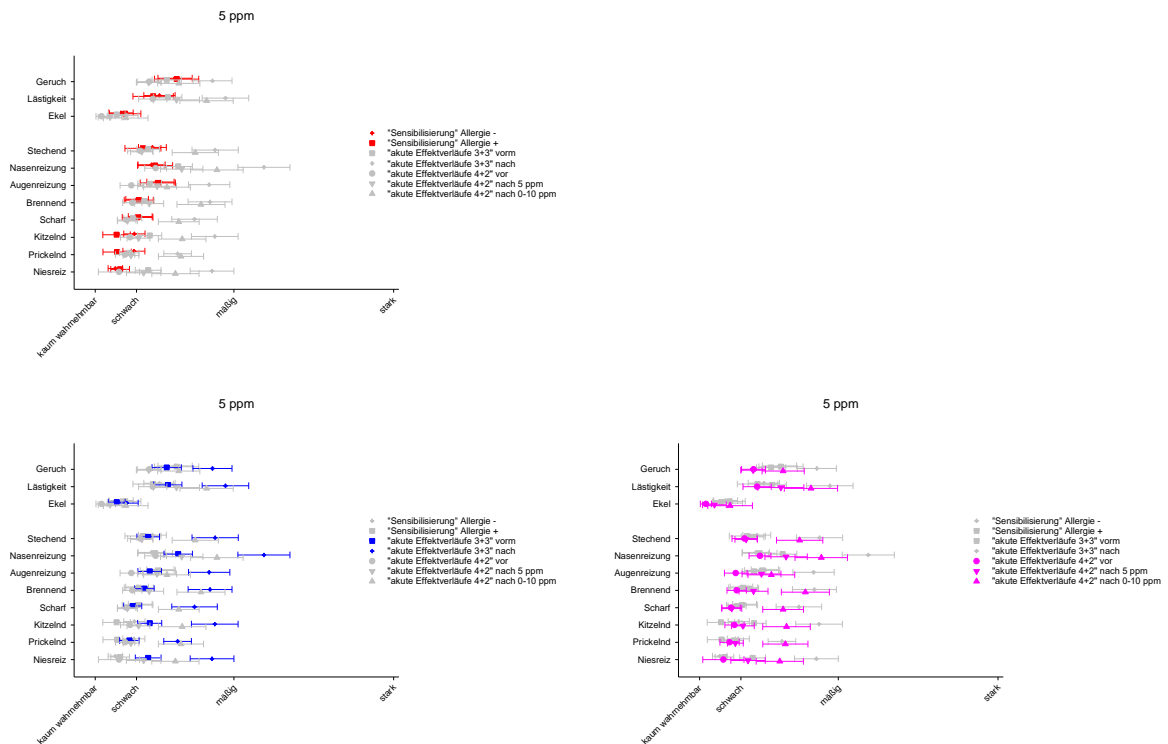


Abb. 27 Mittlere LMS-Ratings für alle experimentellen Variationen bei 5 ppm

Im Vergleich der 5 ppm Expositionen (vgl. Abb. 27) zeigt sich, dass die 5 ppm-Expositionen nach einer vorangegangenen 0-10 ppm Exposition höher sind (Experimente „Akute Effektverläufe 3+3“ und „Akute Effektverläufe 4+2“). Hier zeigt sich deutlich, dass es Übertragungseffekte (Erhöhung im Vergleich zu anderen 5 ppm Expositionen) über eine 30 minütige Expositionspause von einer maximal zulässigen Exposition mit Spitzen (0-10 ppm) auf die 5 ppm Exposition gibt. Diese Übertragung ist unabhängig davon, ob die vorangegangene Exposition 3 h (Experiment „Akute Effektverläufe 3+3“ mit 3 Spitzen) oder 4 h (Experiment „Akute Effektverläufe 4+2“ mit 4 Spitzen) dauerte. Sie ist nicht auf besonders „empfindliche/responsive“ Versuchspersonen (Experiment „Akute Effektverläufe 3+3“) beschränkt, sondern auch zeigt sich auch bei „normalen“ Versuchspersonen (Experiment „Akute Effektverläufe 4+2“). Eine solche deutliche Erhöhung zeigt sich nicht bei einer vorangegangenen konstanten 5 ppm Bedingung (geringe Erhöhung der Ratings im Vergleich zur vorangegangenen 5 ppm Exposition; Experiment „Akute Effektverläufe 4+2“).

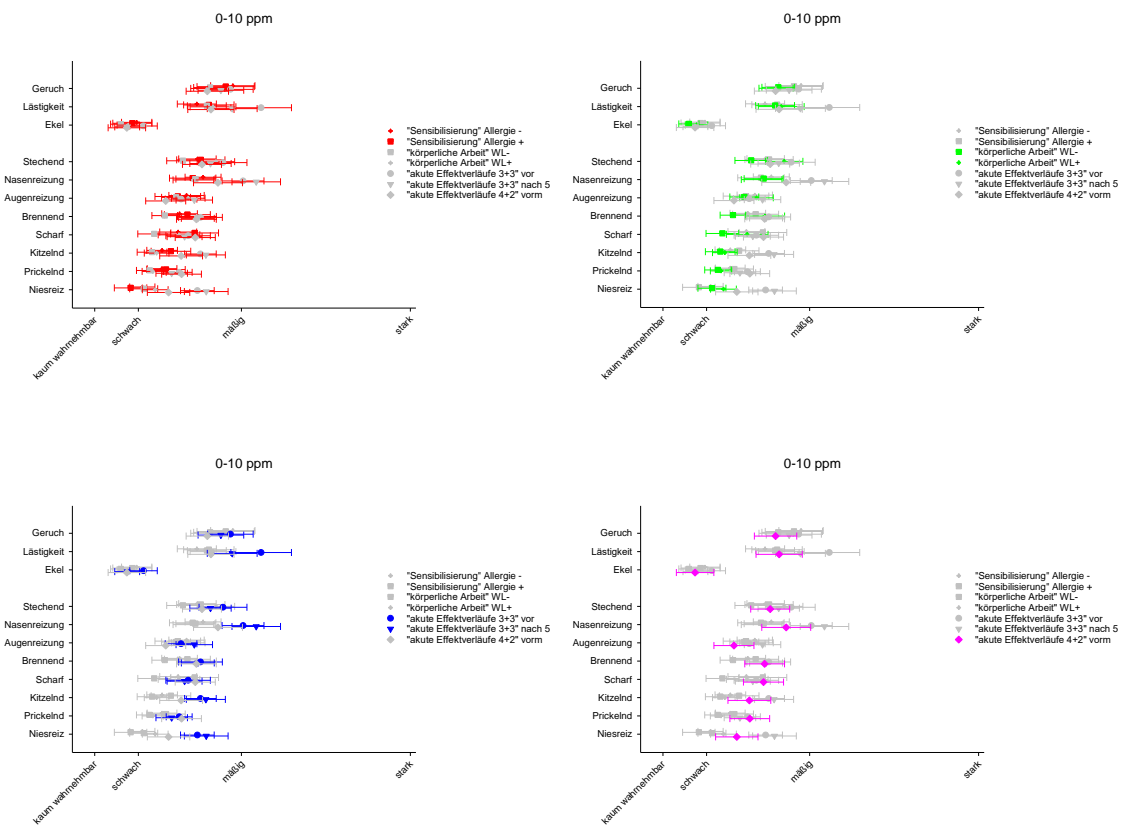


Abb. 28 Mittlere LMS-Ratings für alle experimentellen Variationen bei 0-10 ppm

Bei der Exposition mit Konzentrationsspitzen (0-10 ppm; Abb. 28) liegen die Einschätzungen aller Experimentalbedingungen nahe beieinander. Interessanterweise sind auch die Einschätzungen der experimentellen Variationen im Experiment „Akute Effektverläufe 3+3“ („empfindliche/responsive“ Versuchspersonen) nur bei einzelnen Empfindungen etwas höher.

4.2.3 Einflussfaktor Dauer (LMS)

Die folgenden Abbildungen (Abb. 29, Abb. 30, Abb. 31) zeigen mittlere Ratings in Abhängigkeit von der Expositionsdauer für die unterschiedlichen LMS-Einschätzungen. Aufgrund der unterschiedlichen Designs der Experimente gehen die Werte unterschiedlicher Anzahlen von Versuchspersonen in diese Mittelwerte ein (Tabelle 7).

Tabelle 7 Anzahl von Versuchspersonen in einzelnen Expositionszeitstufen (aufgrund unterschiedlicher Designs der Experimente)

	2h	3 h	4h	6h	2h nachm	3h nachm
0 ppm	148	148	118	60	60	30
5 ppm	116	116	86	60	60	30
0-10 ppm	148	148	118	60	30	30

In die Expositionszeitstufen 2h und 3h wird jeweils die gesamte Zahl der analysierten Versuchspersonen im Mittelwert zusammengefasst (bei Experiment „körperliche Arbeit“ gab es keine 5 ppm-Konzentrationsstufe; n =32). Bei der Expositionszeitstufe 4h kann das Experiment „Akute Effektverläufe 3+3“ (n = 30) nicht berücksichtigt werden, da nach drei Stunden Exposition in diesem Experiment eine Pause gemacht wurde, bevor die Personen weitere 3h exponiert wurden. In der Expositionsstufe 6h wurden die Experimente „Akute Effektverläufe 3+3“ (3h+3h) und „Akute Effektverläufe 4+2“ (4h+2h) zusammengefasst. In der Expositionsstufe 2h nachm sind die letzten beiden Stunden des Experiments „Akute Effektverläufe 4+2“ und die Stunden 4-5 des Experiments „Akute Effektverläufe 3+3“ zusammengefasst. Diese Zusammenfassung ist willkürlich, soll aber die Zeit nach einer Expositionspause repräsentieren. Zu beachten ist, dass in der Konzentrationsstufe 5 ppm im Falle der Expositionsstufen 2h nachm und 3h nachm jeweils eine Exposition von 0-10 ppm vorher erfolgt ist (für drei bzw. vier Stunden). Die Versuchspersonen der Konzentrationsstufe 0-10 ppm hatten bei diesen Expositionsstufen hingegen vorher eine 5 ppm-Exposition. In den 6 h Expositionszeitstufen stecken daher auch kombinierte Expositionsszenarien (Experiment „Akute Effektverläufe 3+3“ bei 5 ppm das Expositionsszenario 5 ppm / 0-10 ppm, bei 0-10 ppm das Expositionsszenario 0-10 ppm / 5 ppm; Experiment „Akute Effektverläufe 4+2“ bei 5 ppm das Expositionsszenario 5 ppm / 5 ppm, bei 0-10 ppm das Expositionsszenario 0-10 ppm / 5 ppm).

Zeitstaffelung 0 ppm

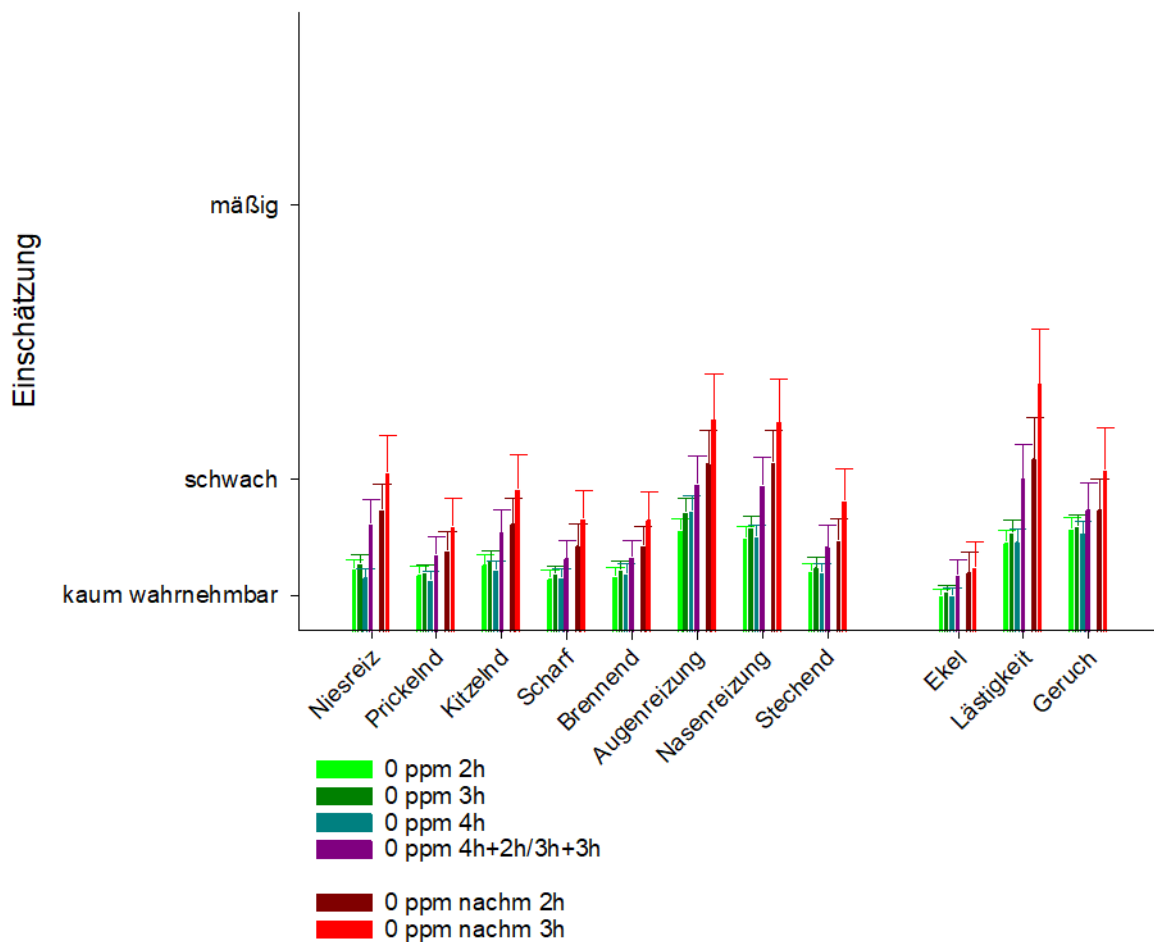


Abb. 29 Mittleres Rating für 0 ppm gestaffelt nach Expositionszeitstufen.

Für die Ratings für die Konzentrationsstufe 0 ppm (Abb. 29) zeigt sich kein Unterschied zwischen den Expositionszeiten 2h, 3h und 4h. Offenbar kommt es bei der Expositionszeit 6h zu einer Zunahme der Ratings bei trigeminalen Einschätzungen und der Lästigkeitseinschätzung. Einen sehr geringen Zuwachs kann man den olfaktorischen Einschätzungen Ekel und Geruchsintensität sehen. Olfaktorische Einschätzungen nehmen in der Regel einen abnehmenden zeitlichen Verlauf. Durch die Pause kann es zu einer Re-Adaptation gekommen (siehe relativ hohe Werte bei 2h nachm). Allerdings muss berücksichtigt werden, dass über die olfaktorischen Ratings bei 0 ppm ausschließlich Umgebungseinflüsse bewertet werden (Ameisensäure ist nicht vorhanden). Es bleibt unklar, ob die hohen Bewertungen der der Expositionsstufe 3h nachm der langen Expositionszeit

geschuldet sind oder Eigenschaften der analysierten Personen (n=30 in dieser Expositionsstufe, alle aus Experiment „Akute Effektverläufe 3+3“).

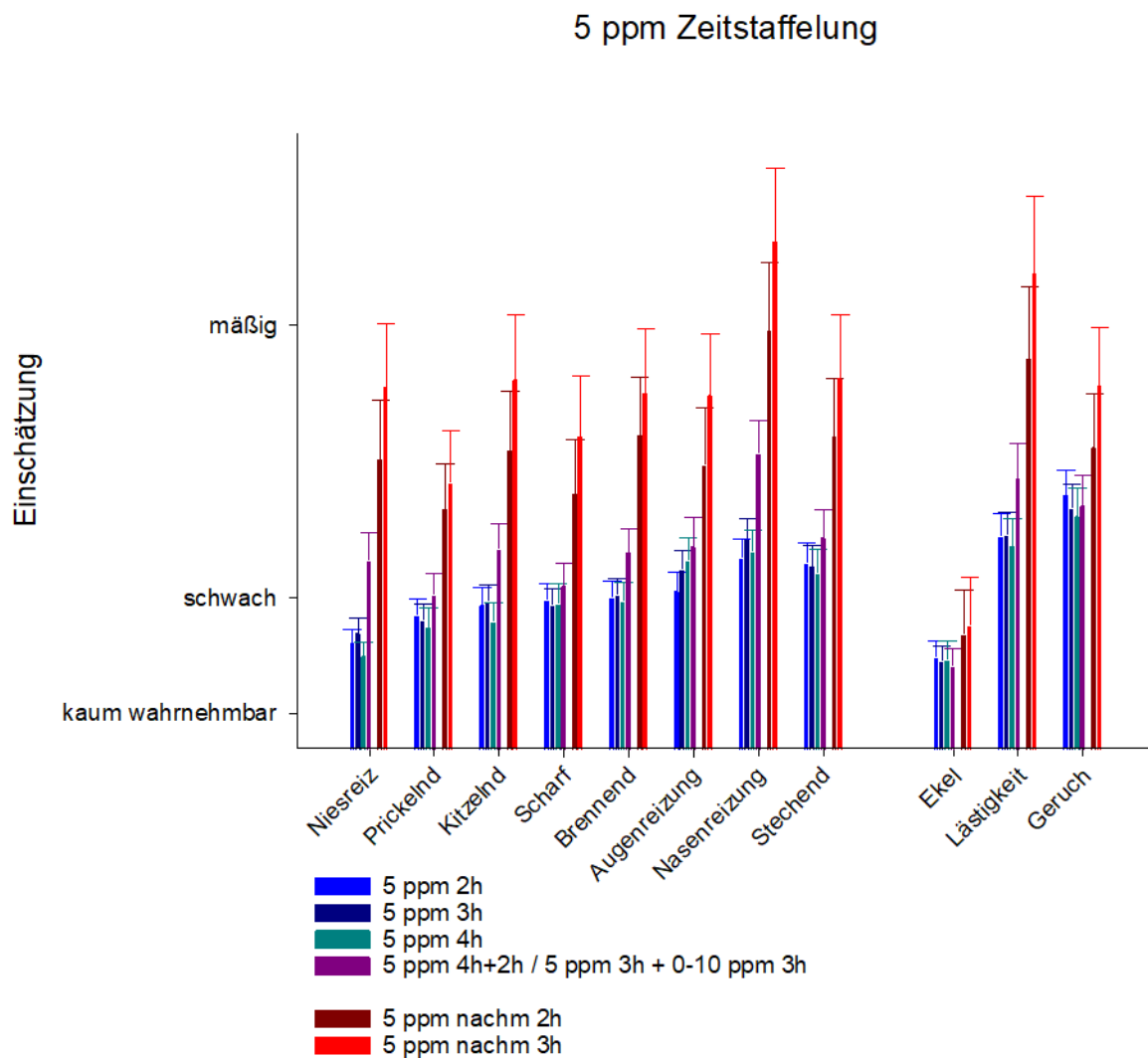


Abb. 30 Mittleres Rating für 5 ppm gestaffelt nach Expositionszeitstufen

Für die Ratings für die Konzentrationsstufe 5 ppm (Abb. 30) zeigt sich eine leichte Abnahme der Ratings zwischen den Expositionszeiten 2h, 3h und 4h für alle Ratings außer Nasenreizung (gleichbleibend) und Augenreizung (leichter Anstieg). In allen Fällen zeigt die Expositionszeitstufe 6 h einen leichten Anstieg in allen Ratings, der möglicherweise der kombinierten Exposition des Experiments „Akute Effektverläufe 3+3“ (5 ppm / 0-10 ppm) geschuldet ist. Allerdings zeigen sich für alle Ratings (außer Ekel) hohe Anstiege nachmittags (2h nachm und 3h nachm). Gerade für die Ratings Nasenreizung, Niesreiz und Kitzelnd hat sich in den vorangegangenen Analysen gezeigt, dass es durch die körperliche Belastung zu einer

Zunahme der Ratings kommt. Bei den anderen trigeminalen Empfindungen (außer Augenreizung) waren die Ratings über die ersten drei Stunden relativ stabil. Es ist möglich, dass diese Ratings später (nach drei Stunden) auch einen ansteigenden Zeitverlauf nehmen könnten. Die Lästigkeit scheint vornehmlich die trigeminalen Ratings widerzuspiegeln.

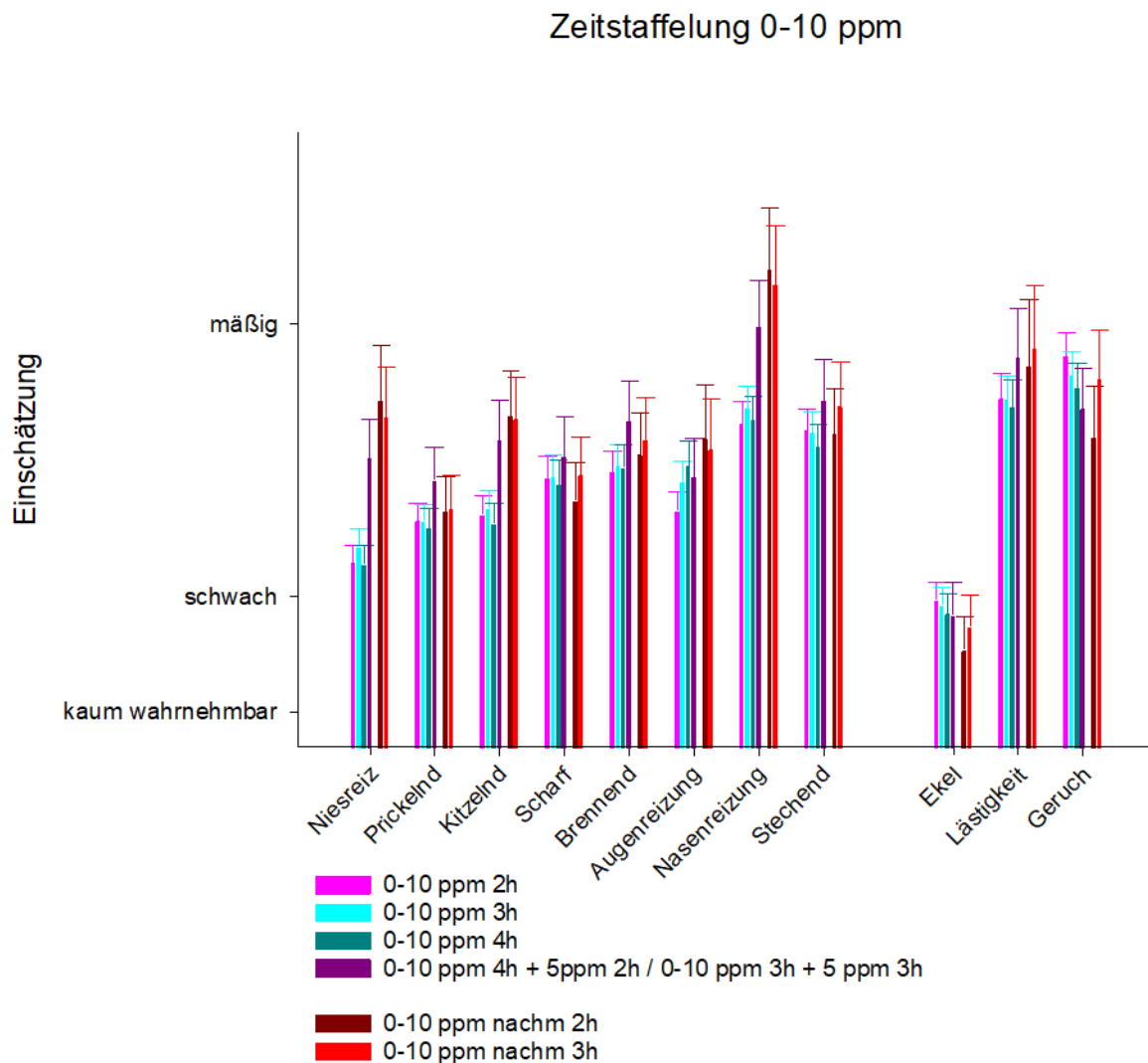


Abb. 31 Mittleres Rating für 0-10 ppm gestaffelt nach Expositionszeitstufen

Für die Ratings für die Konzentrationsstufe 0-10 ppm (Abb. 31) zeigen sich kaum Unterschiede zwischen den Expositionszeitstufen. Lediglich bei Niesreiz, Nasenreizung und Kitzelnd zeigen sich deutliche Zunahmen bei der Expositionsstufe 6h und nachmittags (2h nachm und 3h nachm). Hier wird auf jeden Fall die Zunahme der Ratings durch körperliche Belastung sichtbar, denn in diesen Expositionsstufen sind ausschließlich Experimente mit körperlicher Belastung („Akute Effektverläufe 3+3“ und „Akute Effektverläufe 4+2“) repräsentiert. Bei dieser Konzentrationsstufe setzen sich die Mittelwerte der Ratings allerdings aus wenigen

Versuchspersonen (n=30) zusammen, da Experiment „Akute Effektverläufe 3+3“ als einziges diese Konzentration nachmittags untersucht.

Fazit. Für die Zeitextrapolation aus 2h-4h Experimenten zeigt sich in dieser Analyse von Ameisensäure-Exposition, dass sich ansteigende Tendenzen (unspezifische Nasenreizung in den ersten drei Stunden; vgl. 4.1.1.1 Labeled Magnitude Scale (LMS)) trotz Pause und niedrigerer Exposition (5 ppm nach 0-10 ppm Ameisensäure) weiter fortsetzen (vgl. Abb. 30). Auch bei 0-10 ppm Ameisensäure (im Anschluss an 5 ppm Ameisensäure) wird eine ansteigende Tendenz (aus konstanter 5 ppm Exposition) fortgesetzt (vgl. Abb. 31 und 3. und 4. Zwischenbericht). Die in dieser Analyse gefundenen Anstiege über die Zeit in subjektiven Empfindungseinschätzungen erzeugen allerdings (noch) keine nachweisbaren physiologischen Veränderungen. Physiologische Effekte in der Nase können nur aufgrund des Messverfahrens nur nach der Exposition gemessen werden und erfassen damit keine möglichen, akuten sondern persistierende Effekte der Ameisensäure-Exposition. Unklar ist, ob eine (noch) längere Exposition (8h unter Berücksichtigung der MAK-Vorgaben) solche persistierenden Effekte auslösen könnte. Für kurze Expositionen (2-3 h) ist denkbar, dass sich eine ansteigende Tendenz in den Ratings erst später als nach drei Stunden Exposition zeigt: Ein kleiner Anstieg könnte durch hohe Varianz in den Ratings bei niedriger Anzahl von Proband*innen verdeckt werden.

4.2.4 Quantitativer Vergleich der experimentellen Variationen (LMS und SPES)

Die vier gemeinsam analysierten Experimente haben unterschiedliche Fragestellungen untersucht. Folgende Faktoren wurden in diesen Experimenten analysiert:

- Exposition: Einfluss der Ameisensäure bei zulässiger Konzentration (MAK)
- Expositionsdauer: Veränderung über die Expositionszeit
- Allergie: Vergleich von allergischen Personen mit gesunden Kontrollpersonen
- Workload: Vergleich von Exposition mit und ohne Workload
- Reihenfolge: Einfluss der vorherigen Exposition auf eine aktuelle Exposition
- Dauer: Verlängerung der Expositionszeit von 4 auf 6 Stunden

Der Einfluss von Exposition und Expositionsdauer ist für die subjektiven Einschätzungen beschrieben worden (4.1.1 Subjektive Einschätzungen). Für diese Analyse konnten Daten aller Versuchspersonen berücksichtigt werden. Der Faktor Allergie wurde im Experiment

„Sensibilisierung“ als Zwischensubjektfaktor untersucht. Der Faktor Workload wurde systematisch im Experiment „körperliche Arbeit“ als Innersubjektfaktor untersucht. Die weiteren Experimente fanden, im Sinne der Effektmaximierung, mit Workload (ohne systematische, experimentelle Variation des Faktors Workload) statt. In den Experimenten „Akute Effektverläufe 3+3“ und „Akute Effektverläufe 4+2“ wurde vor allem der Faktor Expositions-Reihenfolge (als Innersubjektfaktor) experimentell untersucht. Außerdem wurde in diesen Experimenten von der üblichen Expositionszeit von 4 Stunden abgewichen und 6-stündige Expositionen untersucht (experimentübergreifender Zwischensubjektfaktor „Dauer“; Vergleich der vierstündigen Experimente „Sensibilisierung“, „körperliche Arbeit“ mit den sechsstündigen Experimenten „Akute Effektverläufe 3+3“, „Akute Effektverläufe 4+2“). Der Faktor „Dauer“ ist nicht eindeutig zu interpretieren, da beide sechsstündigen Experimente mit Workload durchgeführt wurden und es nicht klar ist, ob die Unterschiede zu den beiden vierstündigen Experimenten nur auf die Verlängerung der Expositionszeit oder (zumindest zu einem Teil) auf Workload zurückzuführen sind, den es in den vierstündigen Experimenten „Sensibilisierung“ gar nicht und „körperliche Arbeit“ nur zum Teil gab. Dennoch wird dieser Faktor in der folgenden Darstellung mitberücksichtigt.

Durch die Unterschiede in den Experimenten hinsichtlich Expositionszeit (mit und ohne Pause), Aufgaben(reihenfolgen) und Versuchspersonen (mit und ohne Allergie) ist ein statistischer Vergleich aller experimentellen Variationen in einem umfassenden Modell unmöglich. Daher wird die Größe des Einflusses der untersuchten experimentellen Variationen rein deskriptiv in Abb. 32 dargestellt (zu beachten ist, dass es sich z.T. um Innersubjekt-Vergleich handelt, zum Teil aber auch um Zwischensubjektvergleiche; der Faktor Dauer ist mit Workload konfundiert).

Untersuchte Hauptwirkungen

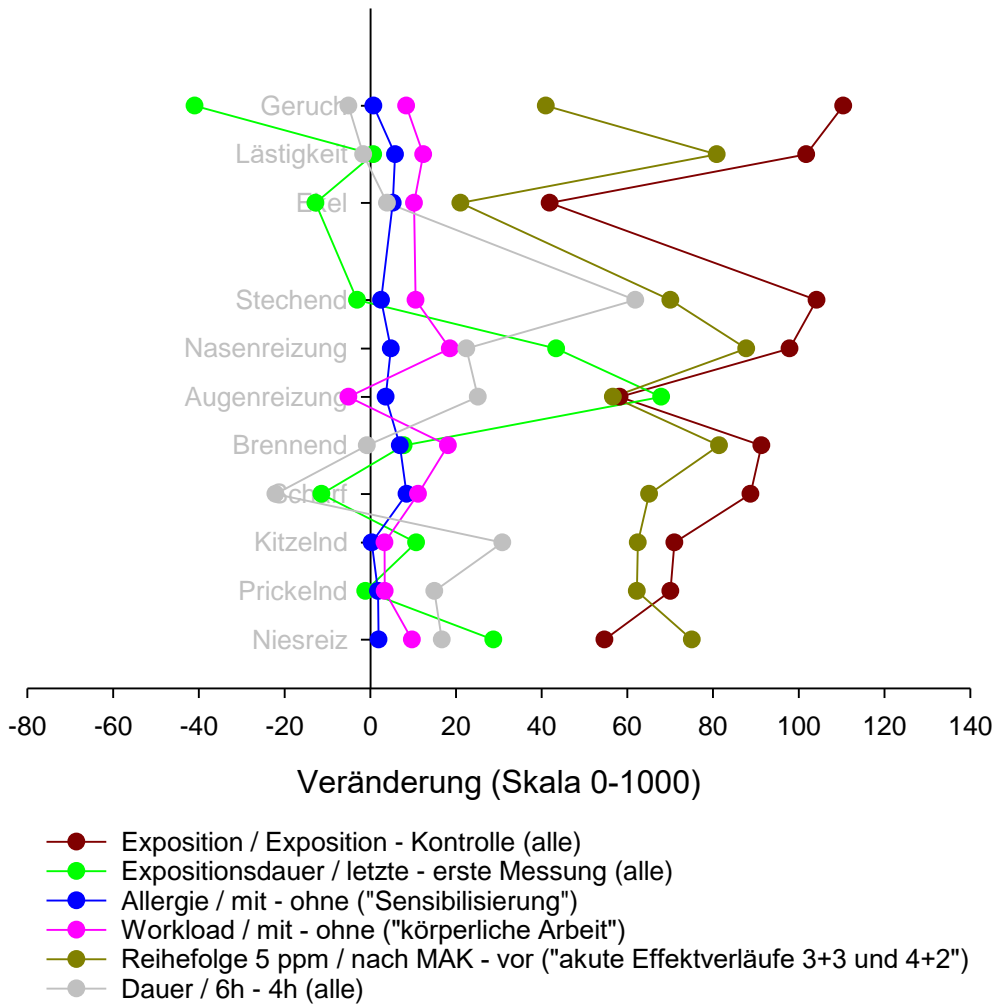


Abb. 32 Durch die untersuchten Faktoren erzeugte Veränderung auf der LMS-Skala; Exposition: Unterschied zwischen Expositions- (MAK) und Kontrollbedingung (0 ppm), Expositionsdauer: Veränderung über die Zeit hier operationalisiert durch die Differenz zwischen letzter Messung und erster Messung, Allergie: Vergleich von Allergikern und gesunden Kontrollpersonen, Workload: Vergleich derselben Versuchspersonen mit und ohne Workload; Reihenfolge: 5 ppm nach MAK-Exposition im Vergleich zu 5 ppm ohne vorherige Exposition, Dauer 6h im Vergleich zu 4 h Exposition.

Es zeigt sich, dass die größte Zunahme (positiver Wert) in fast allen LMS-Einschätzungen durch die experimentelle Variation Exposition (MAK-Exposition vs. 0 ppm; Innersubjektvergleich) erzeugt wird (hier dargestellt der Faktor Exposition aus der gemeinsamen Analyse für 7 Messzeitpunkte in diesem Bericht, 4.1.1 Subjektive Einschätzungen). Zu einer nahezu

gleichgroßen Veränderung kam es bei einer 5 ppm-Exposition nach einer MAK-Exposition (0-10 ppm) im Vergleich zu einer 5 ppm-Bedingung ohne vorherige Exposition (dieser Zusammenhang wurde im 3. und 4. Zwischenbericht dargestellt und betrifft den Innersubjekt-Vergleich unterschiedlicher Expositionsbedingungen und -zeiten; Experimente „Akute Effektverläufe 3+3“ und „Akute Effektverläufe 4+2“). Deutliche Veränderungen in beide Richtungen (Zunahme und Abnahme) in einzelnen LMS-Einschätzungen bewirkt auch der Faktor Expositionsdauer (vgl. Gesamttrend in Tabelle 4; Innersubjektvergleich aller Experimente basierend auf den ersten 7 Messzeitpunkten). Einzelne größere Veränderungen bewirkt auch der Faktor Dauer (experimentübergreifender Zwischensubjektvergleich). Allerdings muss beachtet werden, dass die 6-stündigen Experimente („Akute Effektverläufe 3+3“ und „Akute Effektverläufe 4+2“) auch körperliche Belastung beinhalten. Daher ist nicht eindeutig klar, ob dieser Effekt auf die längere Dauer oder auf die körperliche Belastung zurückzuführen ist. Workload allein (Innersubjektvergleich des Experiments „körperliche Arbeit“) erzeugt nur kleinere Veränderungen (Innersubjektvergleich im Experiment „körperliche Arbeit“). Dennoch ist dieser kleinere durch Workload erzeugte Unterschied in der Einzelanalyse des Experiments (vgl. 2. Zwischenbericht und „8.3 Übersicht ausgewählter, signifikanter Effekte in den Einzelexperimenten“) für die Empfindungen Nasenreizung und Brennend signifikant. Die Allergie hat so gut wie keinen Einfluss auf die Empfindungseinschätzungen im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen (Zwischensubjektvergleich im Experiment „Sensibilisierung“). Allerdings sind die Allergiker außerhalb der Pollensaison untersucht worden und es ist nicht auszuschließen, dass eine Selbstselektion insofern stattgefunden hat, dass Personen mit stärkeren Beeinträchtigungen durch die Allergie gar nicht am Experiment teilgenommen haben. Gerade bei kleineren Effekten ist eine getrennte Betrachtung der Stufen des Faktors Exposition interessant, da Veränderungen durch körperliche Arbeit (oder ggf. durch Allergie) ja vor allem bei Ameisensäureexposition erwartet werden. Abb. 33 zeigt neben dem Einfluss der körperlichen Arbeit pro Expositionsbedingung noch den Einfluss der Expositionsdauer und der Allergie pro Expositionsbedingung.

Interaktion mit Exposition

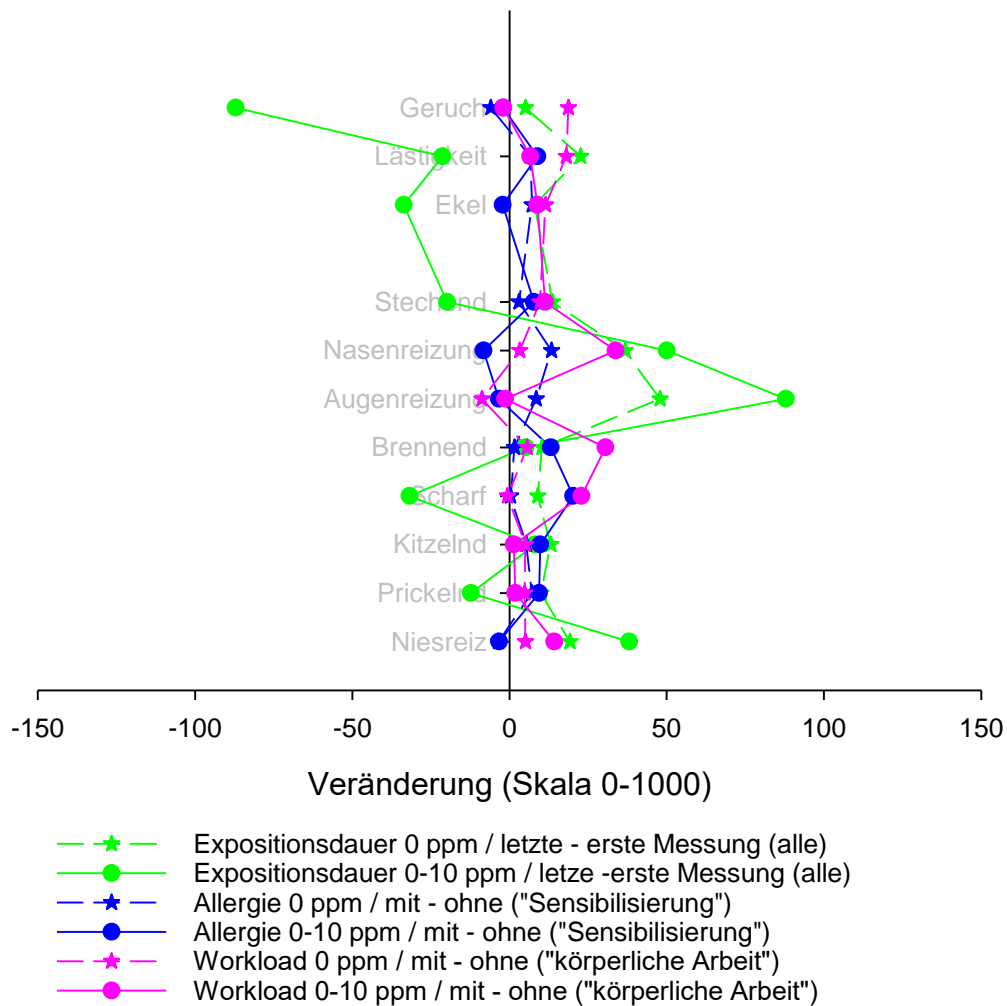
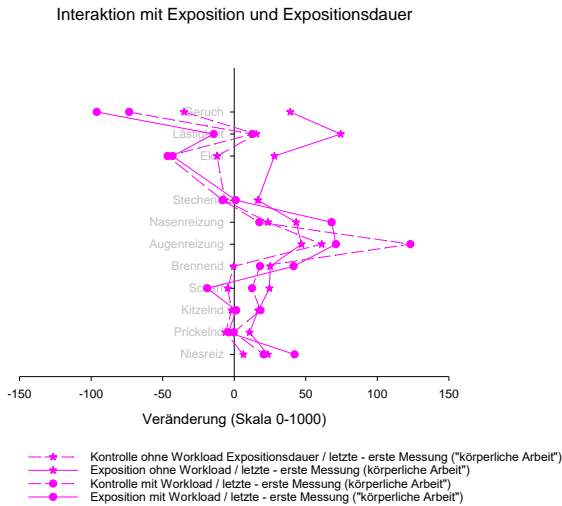


Abb. 33 Durch die untersuchten Faktoren erzeugte Veränderung auf der LMS-Skala für die Kontrollexposition (0 ppm) und die experimentelle Exposition (0-10 ppm)

Die Allergiker unterscheiden sich weder in der 0 ppm Bedingung noch in der 0-10 ppm Bedingung von den gesunden Kontrollpersonen. Die Anpassungseffekte der Expositionsdauer bei den olfaktorischen Einschätzungen (Geruchsintensität und Ekel) zeigen sich erwartungsgemäß nur in der 0-10 ppm Bedingung. Zuwächse durch die Expositionsdauer zeigen sich bei Augen- und Nasenreizung sowie Niesreiz vornehmlich in der 0-10 ppm Bedingung. Eine erhöhte Empfindung der Nasenreizung und von Brennend zeigt sich auch bei körperlicher Arbeit (Workload) in der 0-10 ppm-Bedingung, wenn auch nicht stark ausgeprägt.

Sieht man sich die Veränderungen durch die Expositionsdauer in der Interaktion mit Exposition und Workload an (Innersubjektvergleich im Experiment „körperliche Arbeit“; Abb. 34a), erkennt man, dass die Augenreizung in der Kontrollbedingung (0 ppm) mit Workload von der ersten zur letzten Messung am stärksten zunimmt. Allerdings sieht man auch die Zunahmen der Empfindungen Nasenreizung, Niesreiz und Brennend bei Workload in der 0-10 ppm-Bedingung, die zeigen, dass körperliche Arbeit und Ameisensäure-Exposition zur stärksten Zunahme von Beginn bis zum Ende der Exposition führen. Um die Erkenntnisse zum Workload zu evaluieren, wurden die Experimente mit („Akute Effektverläufe 3+3“, „Akute Effektverläufe 4+2“) und ohne Workload („Sensibilisierung“) in der gleichen Konstellation (als Zwischensubjektfaktor in der Dreifach-Interaktion mit Exposition und Expositionsdauer) verglichen. Zu beachten ist hier, dass sich die jeweiligen Experimente nicht nur durch Workload unterscheiden, sondern auch im Hinblick auf die Expositionsdauer. Dennoch zeigt sich bei diesem experimentübergreifenden Zwischensubjektvergleich ein sehr ähnliches Muster (Abb. 34b) wie beim Innersubjektvergleich des Faktors Workload. Diese Ähnlichkeit der Muster kann als Zeichen dafür gewertet werden, dass es sich um einen stabilen und replizierbaren Einfluss von Workload handelt. Die Tatsache, dass die Einschätzung der Nasenreizung bei 0-10 ppm im Vergleich der ersten und letzten Messung eine größere Zunahme im experimentübergreifenden Zwischensubjekt-Effekt (Abb. 34b) als im Innersubjektvergleich (Abb. 34a) aufweist, lässt sich nicht eindeutig der Dauer (6h) zuordnen. Hier können auch Gruppenunterschiede in den am Vergleich beteiligten Experimenten eine Rolle spielen.

a



b

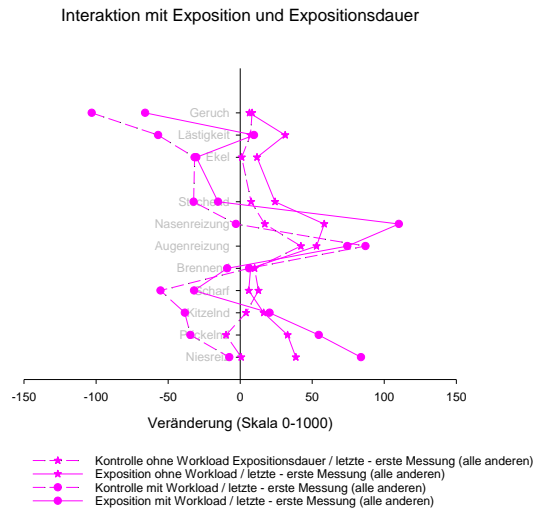


Abb. 34 Durch Workload erzeugte Veränderung auf der LMS-Skala für die Kontrollexposition (0 ppm) und die experimentelle Exposition (0-10 ppm) zu Beginn und zum Ende der Messung (a) im Innersubjektvergleich (Experiment „körperliche Arbeit“) und (b) im experimentübergreifenden Zwischensubjektvergleich (Experiment „Sensibilisierung“ vs. Experimente „Akute Effektverläufe 3+3“, „Akute Effektverläufe 4+2“; Vergleich ist konfundiert mit Schichtdauer)

Abb. 35 zeigt die Größe des Einflusses der jeweiligen untersuchten experimentellen Variationen für die Symptomanangaben über die SPES-Skala.

Untersuchte Hauptwirkungen

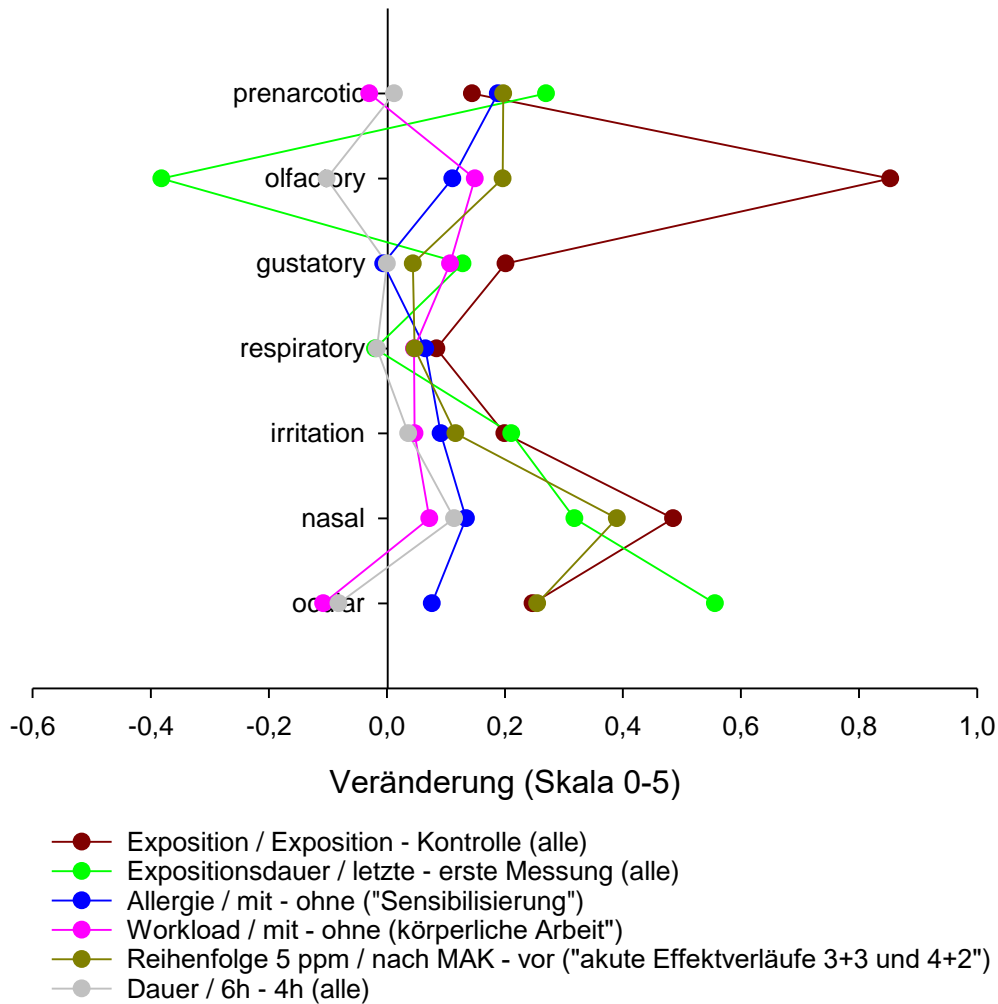


Abb. 35 Durch die untersuchten Faktoren erzeugte Veränderung auf SPES-Skala; Exposition: Unterschied zwischen Expositions- (MAK) und Kontrollbedingung (0 ppm), Expositionsdauer: Veränderung über die Zeit hier operationalisiert durch die Differenz zwischen letzter Messung und erster Messung, Allergie: Vergleich von Allergikern und gesunden Kontrollpersonen, Workload: Vergleich derselben Versuchspersonen mit und ohne Workload; Reihenfolge: 5 ppm nach MAK-Exposition im Vergleich zu 5 ppm ohne vorherige Exposition, Dauer 6h im Vergleich zu 4 h Exposition.

Bei der SPES-Skalierung sind die Einflüsse der untersuchten Variationen nicht mehr so deutlich. Man sieht sie bei olfaktorischen, nasalen und okularen Symptomen. Die Einflüsse der untersuchten experimentellen Variationen konnten in Richtung und Verhältnis zueinander für Geruchsintensität (vgl. Abb. 32) mit der Einschätzung olfaktorischer Symptome (vgl. Abb. 35) repliziert werden. Die nasalen Symptome (vgl. Abb. 35) spiegeln im Wesentlichen die Hauptwirkungen der Nasenreizung und Niesreiz (vgl. Abb. 32) wider. Der Einfluss von

Workload auf die Einschätzung nasaler Symptome ist, genauso wie der der Allergie und der Dauer im Vergleich zur LMS-Skalierung von Nasenreizung sehr gering. Das kann damit zu tun haben, dass die LMS-Skala eine kontinuierliche Abstufung erlaubt, während die Symptomeinschätzung auf einer diskreten Skala mit 6 Stufen durchgeführt wird. Bei letzterer sind möglicherweise größere Empfindungsveränderungen nötig, um von einer Stufe auf die nächste zu wechseln, während die LMS auch kleinere Veränderungen in der Empfindung sichtbar macht.

Fazit. Für die LMS-Einschätzungen lässt sich resümieren, dass alle Ratings durch die Ameisensäure-Exposition in Höhe des MAK-Werts mit Konzentrationsspitzen (0-10 ppm) im Vergleich zur Kontrollbedingung zunehmen. Der Faktor Expositionsdauer (Vergleich der ersten und letzten Messung) hat dabei unterschiedliche Einflüsse: Olfaktorische Einschätzungen (LMS: Geruchsintensität und Ekel; SPES: nasale Symptome) nehmen ab (Gewöhnungsprozesse), einige trigeminale Einschätzungen verändern sich kaum über die Expositionsdauer (LMS: Stechend, Brennend, Scharf, Kitzelnd, Prickelnd), und zwei trigeminale Einschätzungen nehmen über die Zeit deutlich zu (LMS: Nasenreizung, Augenreizung; SPES: nasale und okulare Symptome). Die Verlaufsmuster in Abb. 4 zeigen diesen Zusammenhang in höherer zeitlicher Auflösung (sieben Messzeitpunkte). Diese Zunahme über die Zeit wird als Indiz für eine beginnende trigeminale Reizung interpretiert, die sich in den physiologischen Messungen allerdings noch nicht zeigt. Der Faktor Reihenfolge führt auch zu starken Veränderungen, die aber eine spezifische Situation der Experimente „Akute Effektverläufe 3+3“ und „Akute Effektverläufe 4+2“ beschreibt, nämlich die 5 ppm-Bedingung nach einer 3- oder 4-stündigen MAK-Exposition (0-10 ppm) im Innersubjektvergleich zu einer 3- oder 4-stündigen 5 ppm Exposition (vor einer anderen Exposition). Dieser Effekt wurde bereits im 3. und 4. Zwischenbericht beschrieben, ist in der Höhe aber fast genauso groß wie der Expositionseffekt (0 ppm vs. 0-10 ppm) über alle Versuchspersonen gesehen. Die Ausgangslagen der Vergleiche (0 ppm über alle Versuchspersonen vs. 5 ppm in den 6-stündigen Experimenten) sind dabei unterschiedlich.

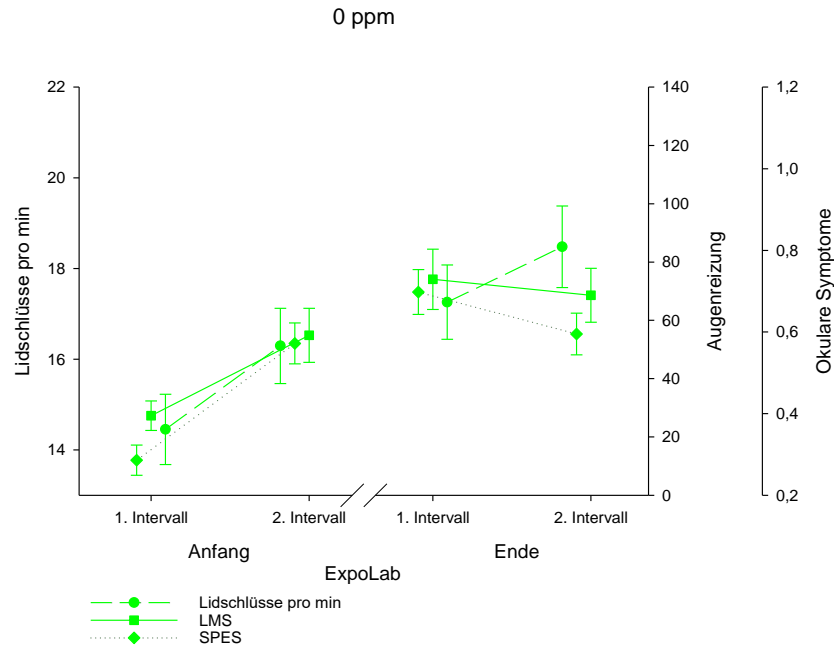
In der Interaktion mit dem Faktor Exposition zeigt sich, dass der Faktor Expositionsdauer vor allem in der Expositionsbedingung und weniger in der Kontrollbedingung wirkt, obwohl auch ohne Exposition die Einschätzung der Augenreizung zunimmt (vermutlich in Folge der visuellen Aufgaben).

Die exemplarisch dargestellte Interaktion zwischen Exposition, Expositionsdauer und Workload zeigt, dass letzterer in Zusammenhang mit Exposition die stärkste Zunahme der Empfindungen Nasenreizung und Niesreiz über die Zeit aufweist. Dies ließ sich sowohl durch den Innersubjektvergleich Workload (Experiment „körperliche Arbeit“; in diesem Vergleich nicht mit Dauer konfundiert) als auch durch den experimentübergreifenden Zwischensubjektvergleich (Experiment „Sensibilisierung“ vs. Experiment „Akute Effektverläufe 3+3“, Experiment „Akute Effektverläufe 4+2“) belegen. Das bedeutet, dass der Workload über die Wirkung der MAK-Exposition hinaus einen kleinen Effekt auf die Einschätzungen von Nasenreizung und Niesreiz hat. Im Zusammenhang mit Workload zeigt sich ein kleiner (möglicherweise noch nicht relevanter, aber hochsignifikanter Effekt auf den FeNO-Wert in der Ausatemluft: Abnahme um ca. 1 ppb NO/ml; vgl. Abb. 25). FeNO gilt als Inflamationsindikator der mittleren und unteren Atemwege (durch eine Messung am Mund werden die oberen Atemwege umgangen). Es ist bekannt, dass der FeNO-Wert unmittelbar nach körperlicher Arbeit sinkt (Stensrud et al. 2016; unterschiedliche Mechanismen werden diskutiert). Dieser Effekt könnte eine Zunahme der FeNO-Werte aufgrund inflammatorischer Prozesse in den unteren und mittleren Atemwegen kaschieren. Allerdings ist unklar, ob und wenn ja, welcher Anteil Ameisensäure die mittleren und unteren Atemwege erreicht (Scrubbing-Effekt der Nase; Shusterman 2007; Brüning et al. 2014; Nielsen and Wolkoff 2017). Die Zunahme der Empfindungen Nasenreizung und Niesreiz wird als Indiz für eine erhöhte Aufnahme der Ameisensäure in der Nase gewertet.

4.2.5 Augenreizung: objektive vs. subjektive Messungen

Da für die okularen Symptome (SPES) und die Augenreizung auch die physiologische Messung der Lidschlussfrequenz interessant ist, werden diese drei Größen gemeinsam diskutiert (vgl. Abb. 36).

a



b

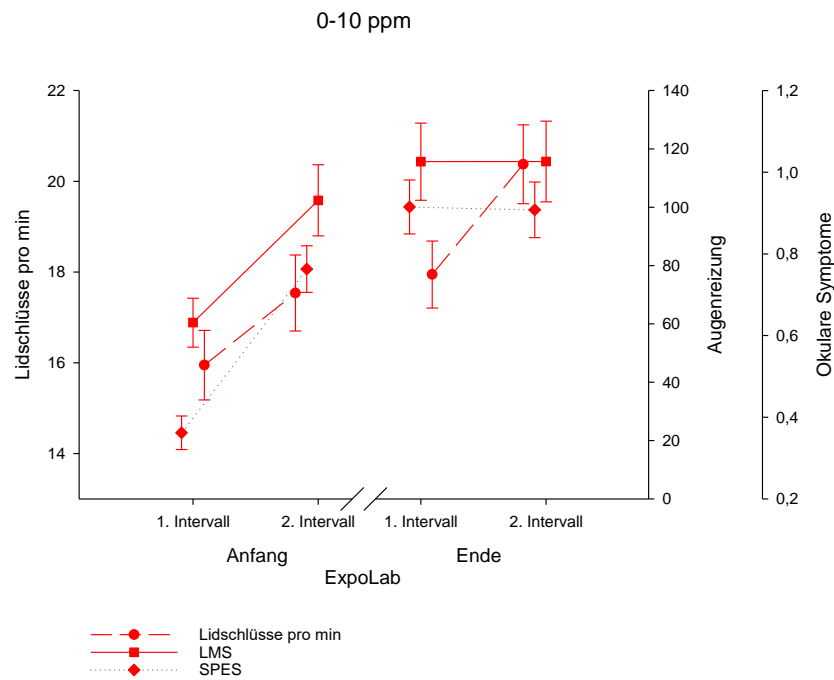


Abb. 36 Lidschlüsse pro min in Relation zu eingeschätzter Empfindung Augenreizung (LMS) und empfundenen okularen Symptomen (alle Versuchspersonen; Lidschlüsse pro min entsprechen Abb. 9); a) 0 ppm; b) 0-10 ppm

In der Abbildung sind die durchschnittlichen Einschätzungen von Augenreizung (LMS) und okularen Symptomen (SPES) aller analysierten Proband*innen unmittelbar vor und nach der jeweiligen analysierten Lidschlussfrequenzmessung abgetragen. Es zeigt sich, dass sowohl die

Einschätzung der Augenreizung als auch der okularen Symptome die Veränderung der Lidschlussfrequenz am Anfang der Exposition (sowohl bei 0 ppm als auch bei 0-10 ppm Ameisensäure-Exposition) abbildet. Diskrepanzen zwischen Lidschlussfrequenz und subjektiven Einschätzungen zeigen sich in erster Linie am Ende der Exposition. So kommt es, dass nur eine minimale Veränderung in den Einschätzungen (0 ppm und deutlicher 0-10 ppm) zwischen dem 1. und 2. Messintervall zu sehen ist, die aber in der Lidschlussfrequenz deutlicher ist. Allerdings liegen die Einschätzungen der Augenreizung bei 0-10 ppm Ameisensäure deutlich höher als bei 0 ppm. Die subjektiven Einschätzungen scheinen nicht nur die Änderungen in der Lidschlussfrequenz zu bewerten, sondern auch die Ameisensäure-Exposition scheint mit in die Bewertung einzugehen. Wieso es zu den Diskrepanzen zwischen Lidschlüssen pro min und Einschätzungen am Ende der Exposition kommt, erklären möglicherweise Unterschiede in den Experimenten. Die folgenden Abbildungen (Abb. 37 - Abb. 40) zeigen daher den gleichen Zusammenhang (wie Abb. 36) für jedes Experiment.

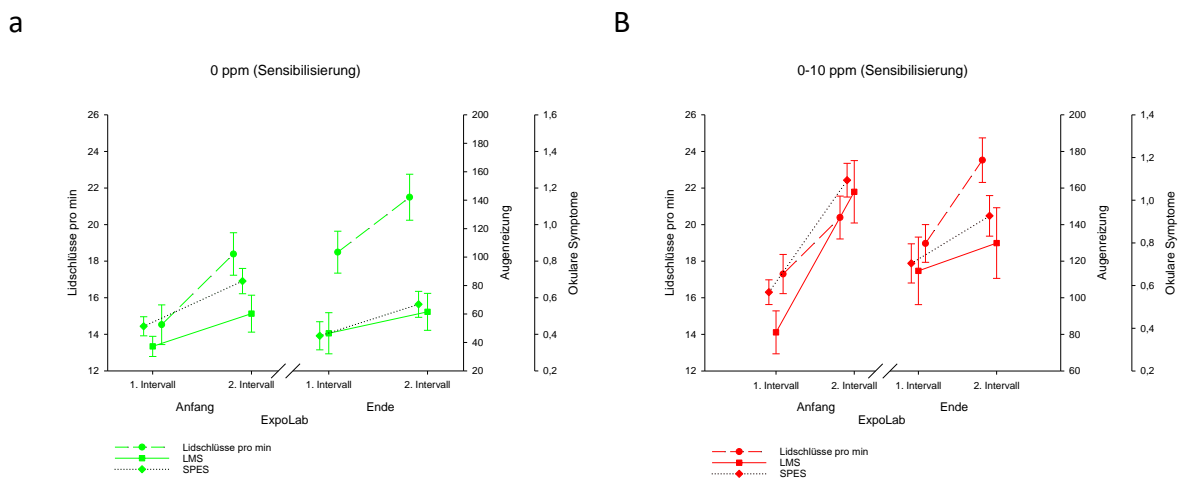
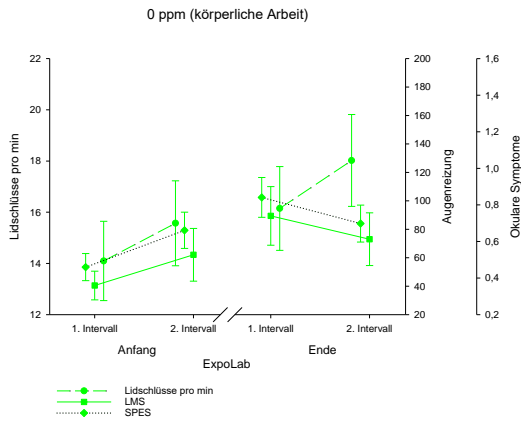


Abb. 37 Lidschlüsse pro min in Relation zu eingeschätzter Empfindung Augenreizung (LMS) und empfundenen okularen Symptomen (Experiment „Sensibilisierung“); a) 0 ppm, b) 0-10 ppm

Im Experiment „Sensibilisierung“ (Abb. 37) geben die subjektiven Einschätzungen die Änderungen der Lidschlussfrequenz sowohl bei 0 ppm als auch bei 0-10 ppm Ameisensäure wieder. In der 0 ppm Bedingung allerdings am Ende auf dem gleichen Niveau wie am Anfang, während die Lidschlussfrequenz zum Ende höher ist. Die Exposition führt zu einer Zunahme der subjektiven Einschätzungen, während die Lidschlüsse pro min in beiden Bedingungen ähnlich sind (Unterschied nur im zweiten Intervall am Ende).

a



b

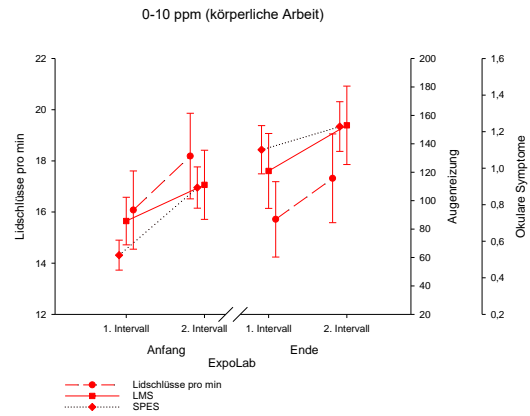
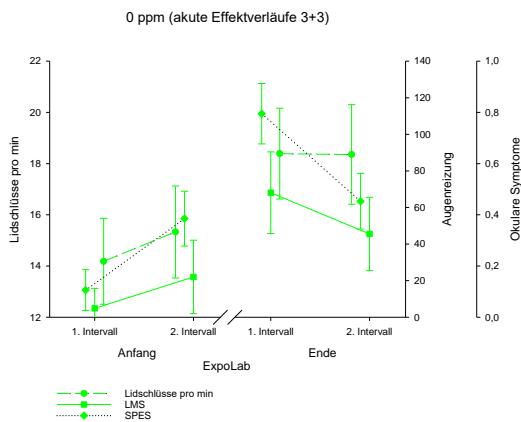


Abb. 38 Lidschlüsse pro min in Relation zu eingeschätzter Empfindung Augenreizung (LMS) und empfundenen okularen Symptomen (Experiment „körperliche Arbeit“); a) 0 ppm, b) 0-10 ppm

Im Experiment „körperliche Arbeit“ (Abb. 38) entsprechen die subjektiven Einschätzungen den Änderungen in der Lidschlussfrequenz bei 0-10 ppm. Bei der 0 ppm Exposition zeigt sich eine Diskrepanz zwischen subjektiven Einschätzungen und den Lidschlüssen pro min im zweiten Intervall am Ende der Exposition. Eine Erhöhung der subjektiven Einschätzungen durch Ameisensäure ist ebenfalls zu sehen. In beiden Experimenten („Sensibilisierung“ und „körperliche Arbeit“) wurden die Proband*innen für 4 h exponiert und die Lidschlussmessungen fanden in aufsteigenden Expositionsflanken statt. Allerdings wurden im Experiment „körperliche Arbeit“ während der Lidschlussmessung naturkundliche Filme gezeigt (in allen anderen Experimenten wurde in dieser Zeit die Mackworth-Uhr Aufgabe durchgeführt).

a



b

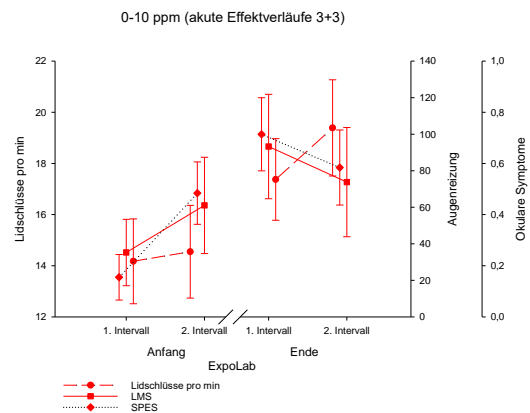
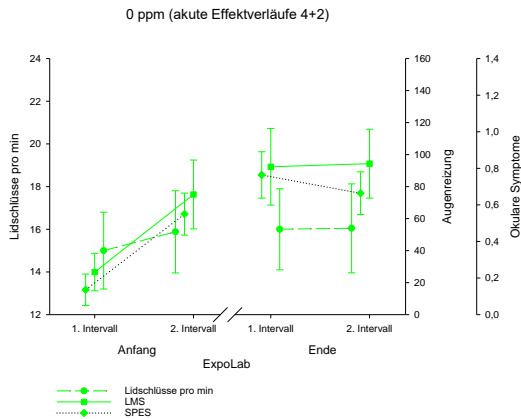


Abb. 39 Lidschlüsse pro min in Relation zu eingeschätzter Empfindung Augenreizung (LMS) und empfundenen okularen Symptomen (Experiment „Akute Effektverläufe 3+3“); a) 0 ppm, b) 0-10 ppm

a



b

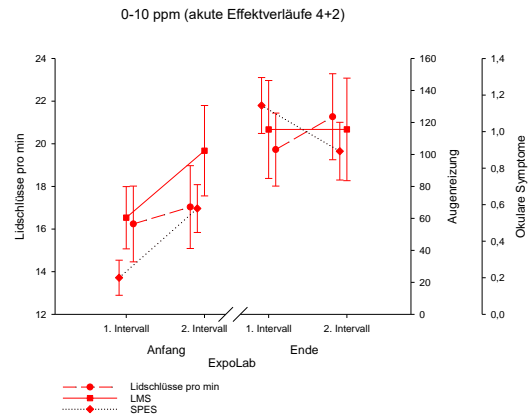


Abb. 40 Lidschlüsse pro min in Relation zu eingeschätzter Empfindung Augenreizung (LMS) und empfundenen okularen Symptomen (Experiment „Akute Effektverläufe 4+2“); a) 0 ppm, b) 0-10 ppm

In den Experimenten „Akute Effektverläufe 3+3“ (Abb. 39) und „Akute Effektverläufe 4+2“ (Abb. 40) werden die Proband*innen über 6 Stunden exponiert, die letzte Messung findet daher in der Kontrollbedingung (0 ppm / 0 ppm) ohne Exposition statt, in der Expositionsbedingung (0-10 ppm / 5 ppm) allerdings in einer konstanten 5 ppm Exposition. Die erste Messung (Anfang) in der Expositionsbedingung findet dagegen in der 0-10 ppm Exposition statt. Während vormittags die Zunahme der Lidschlüsse pro min auch in den subjektiven Einschätzungen sichtbar ist, ändert sich nachmittags die Lidschlussfrequenz in der 0 ppm Bedingung kaum. Dieser Effekt zeigt sich auch in den subjektiven Ratings. Bei Exposition nimmt auch nachmittags die Lidschlussfrequenz zu, die Einschätzungen aber nehmen ab oder bleiben ungefähr gleich.

Alles in allem geben die Einschätzungen der Augenreizung die Änderungen in der Lidschlussfrequenz gut wieder. Diskrepanzen der Einschätzungen zu den Lidschlüssen pro min können unterschiedliche Gründe haben. Einerseits könnte es sein, dass die Zunahme der Lidschlüsse pro min in der 0 ppm Exposition als nicht so unangenehm empfunden wird als in der Ameisensäure-Exposition. In allen Experimenten zeigt sich, dass allein die Tatsache, dass Ameisensäure in der Luft ist, zu höheren Ratings führt. Ebenso ist es möglich, dass die Erhöhung der Lidschlussfrequenz auch zu einer Abnahme der subjektiven Augenreizung führt, weil es sich um einen Abwehrmechanismus des Auges handelt, der durchaus erfolgreich sein kann und zu einer Linderung der Beschwerden führt.

5 Auflistung der für das Vorhaben relevanten Veröffentlichungen, Schutzrechtsanmeldungen und erteilten Schutzrechte von nicht am Vorhaben beteiligten Forschungsstellen

Eine systematische Literaturrecherche in der Datenbank PubMed der National Library of Medicine mit den Suchbegriffen "sensory irritation"[All Fields] AND 2016/01/01:2021/12/31[Date - Publication] AND "humans"[MeSH Terms] erbrachte für den Projektzeitraum 24 Treffer, die im Folgenden aufgelistet sind:

1. Abraham MH, Gola JM, Cometto-Muñiz JE. An assessment of air quality reflecting the chemosensory irritation impact of mixtures of volatile organic compounds. *Environ Int.* Jan 2016;86:84-91. doi:10.1016/j.envint.2015.07.012
2. Claeson AS, Lind N. Human exposure to acrolein: Time-dependence and individual variation in eye irritation. *Environ Toxicol Pharmacol.* Jul 2016;45:20-7. doi:10.1016/j.etap.2016.05.011
3. Hansen JS, Nørgaard AW, Koponen IK, et al. Limonene and its ozone-initiated reaction products attenuate allergic lung inflammation in mice. *J Immunotoxicol.* Nov 2016;13(6):793-803. doi:10.1080/1547691x.2016.1195462
4. Rosbrook K, Green BG. Sensory Effects of Menthol and Nicotine in an E-Cigarette. *Nicotine Tob Res.* Jul 2016;18(7):1588-95. doi:10.1093/ntr/ntw019
5. Sun L, Wang X, Zhang Y, Wang T, Li X, Ma Y. The evaluation of neural and vascular hyper-reactivity for sensitive skin. *Skin Res Technol.* Aug 2016;22(3):381-7. doi:10.1111/srt.12278
6. Takaishi M, Uchida K, Suzuki Y, et al. Reciprocal effects of capsaicin and menthol on thermosensation through regulated activities of TRPV1 and TRPM8. *J Physiol Sci.* Mar 2016;66(2):143-55. doi:10.1007/s12576-015-0427-y
7. Wolkoff P, Crump DR, Harrison PT. Pollutant exposures and health symptoms in aircrew and office workers: Is there a link? *Environ Int.* Feb 2016;87:74-84. doi:10.1016/j.envint.2015.11.008
8. Altuntas EE, Turgut NH, Durmuş K, Doğan Ö T, Akyol M. Strontium chloride hexahydrate as a candidate molecule for long-term treatment of allergic rhinitis. *Indian J Med Res.* Jul 2017;146(1):121-125. doi:10.4103/ijmr.IJMR_894_15
9. Claeson AS, Andersson L. Symptoms from masked acrolein exposure suggest altered trigeminal reactivity in chemical intolerance. *Neurotoxicology.* May 2017;60:92-98. doi:10.1016/j.neuro.2017.03.007
10. Nielsen GD, Larsen ST, Wolkoff P. Re-evaluation of the WHO (2010) formaldehyde indoor air quality guideline for cancer risk assessment. *Arch Toxicol.* Jan 2017;91(1):35-61. doi:10.1007/s00204-016-1733-8
11. Nielsen GD, Wolkoff P. Evaluation of airborne sensory irritants for setting exposure limits or guidelines: A systematic approach. *Regul Toxicol Pharmacol.* Nov 2017;90:308-317. doi:10.1016/j.yrtph.2017.09.015
12. Wolkoff P, Nielsen GD. Effects by inhalation of abundant fragrances in indoor air - An overview. *Environ Int.* Apr 2017;101:96-107. doi:10.1016/j.envint.2017.01.013
13. Lipsa D, Barrero-Moreno J, Coelhan M. Exposure to selected limonene oxidation products: 4-OPA, IPOH, 4-AMCH induces oxidative stress and inflammation in human lung epithelial cell lines. *Chemosphere.* Jan 2018;191:937-945. doi:10.1016/j.chemosphere.2017.10.065
14. Wolkoff P. The mystery of dry indoor air - An overview. *Environ Int.* Dec 2018;121(Pt 2):1058-1065. doi:10.1016/j.envint.2018.10.053
15. Wolkoff P. Indoor air humidity, air quality, and health - An overview. *Int J Hyg Environ Health.* Apr 2018;221(3):376-390. doi:10.1016/j.ijheh.2018.01.015

16. Campos P, Benevenuto CG, Calixto LS, Melo MO, Pereira KC, Gaspar LR. Spirulina, Palmaria Palmata, Cichorium Intybus, and Medicago Sativa extracts in cosmetic formulations: an integrated approach of in vitro toxicity and in vivo acceptability studies. *Cutan Ocul Toxicol.* Dec 2019;38(4):322-329. doi:10.1080/15569527.2019.1579224
17. Martinez JM, Eling TE. Activation of TRPA1 by volatile organic chemicals leading to sensory irritation. *Altex.* 2019;36(4):572-582. doi:10.14573/altex.1811012
18. Nachtigal D, Andrew K, Green BG. Selective Effects of Temperature on the Sensory Irritation but not Taste of NaCl and Citric Acid. *Chem Senses.* Jan 1 2019;44(1):61-68. doi:10.1093/chemse/bjy072
19. Al-Saleh I, Elkhatib R, Al-Rajoudi T, et al. Cytotoxic and genotoxic effects of e-liquids and their potential associations with nicotine, menthol and phthalate esters. *Chemosphere.* Jun 2020;249:126153. doi:10.1016/j.chemosphere.2020.126153
20. Jiang B, Wang H, Cheng L, Zi Y, He C, Den YA. Online comment-based prediction of cosmetic ingredient's sensory irritation using gradient boosting algorithm. *J Cosmet Dermatol.* Jul 2020;19(7):1676-1683. doi:10.1111/jocd.13201
21. Tzortzi A, Teloniatis S, Matiampa G, et al. Passive exposure of non-smokers to E-Cigarette aerosols: Sensory irritation, timing and association with volatile organic compounds. *Environ Res.* Mar 2020;182:108963. doi:10.1016/j.envres.2019.108963
22. Wolkoff P. Indoor air chemistry: Terpene reaction products and airway effects. *Int J Hyg Environ Health.* Apr 2020;225:113439. doi:10.1016/j.ijheh.2019.113439
23. Do LHD, Maibach H. The 21-day cumulative irritation assay in man: a half-century summary and re-evaluation. *Cutan Ocul Toxicol.* Jun 2021;40(2):61-65. doi:10.1080/15569527.2021.1887885
24. Pauluhn J, Whalan JE. Human risk assessment of inhaled irritants: Role of sensory stimulations from spatially separated nociceptors. *Toxicology.* Oct 2021;462:152929. doi:10.1016/j.tox.2021.152929

Zehn weitere Publikation wurden vom IPA oder IfADo im Berichtszeitraum publiziert.

6 Bewertung der Ergebnisse hinsichtlich des Forschungszwecks/-ziels, Schlussfolgerungen

Mit diesen Ergebnissen liegen erstmals umfassende Daten zu effektmodulierenden Faktoren für einen relevanten Reizstoff für eine große Anzahl Proband*innen vor. Die stärksten Effekte werden auf der Ebene des Erlebens ausgelöst (subjektiven Empfindungen). Hier ergibt sich ein Empfindungsprofil, das erstmals in der Reizstoff-Forschung am IfADo schwächer vom Geruch der Ameisensäure dominiert wird. Nasen- und Augenreizungen werden ähnlich stark empfunden, wobei die Angaben quantitativ im Bereich „mäßig“ liegen. Effekte auf physiologische Variablen gibt es durch den Reizstoff in der für Arbeitsplätze zulässigen Exposition kaum. HMGB1 in der NALF scheint vor allem unmittelbar nach der Spitzenexposition leicht erhöht. Die Messungen der Volumina der Nase mittels akustischer Rhinometrie sind nach Exposition größer, was eine Anschwellung der intranasalen Schleimhäute vermuten lässt. Es handelt sich allerdings um einen isolierten Effekt auf einen Messparameter und assoziierte Veränderungen, wie die Zunahme des nasalen Luftdurchflusses, zeigen sich nicht. Daher ist es unklar, ob diese Beobachtung ein Indikator für

adverse, physiologische Veränderungen ist. Er geht allerdings einher mit einem über die Expositionsdauer zunehmenden Empfinden nasaler Reizung. Die Lidschlussfrequenz ist bei Ameisensäure-Exposition zum Ende der Exposition erhöht. Die subjektiven Empfindungen der Augenreizung spiegeln diese gemessenen Veränderungen relativ gut wider, sind aber auch von anderen Einflüssen abhängig. So führt z.B. die Ameisensäure-Exposition per se auch zu erhöhten Angaben von Augenreizung, ohne dass diese in der Lidschlussfrequenz sichtbar wird. Die Erhöhung der Lidschlussfrequenz kann außerdem einen lindernden Effekt haben.

Die zeitlichen Verlaufsanalysen der subjektiven Einschätzungen sind in diesen Analysen von besonderer Bedeutung und wurden daher detailliert dargestellt. Physiologisch plausible Verläufe werden als Indikator für Prozesse an den jeweiligen Rezeptoren der beiden chemosensorischen Systeme, Olfaktorik und trigeminale Chemorezeption, interpretiert. Hinweise auf korrespondierende physiologische und subjektive Veränderungen konnten nachgewiesen werden (Lidschlussfrequenz und Augenreizung; Veränderungen in der Nasenhaupthöhle und Empfindung der Nasenreizung). Dennoch verbleiben Unsicherheiten, ob subjektive Einschätzungen als reliabile und valide Indikatoren sensorische Irritationen am Auge, vergleichbar mit physiologischen Veränderungen, genutzt werden können.

Die Variation in der Reihenfolge der Spitzenexposition in einem Experiment („Akute Effektverläufe 3+3“, vormittags vs. nachmittags) führt bei den subjektiven Einschätzungen ebenfalls zu messbaren Effekten. Trotz Pause gibt es offenbar eine Übertragung aus der Exposition gegenüber Konzentrationsspitzen auf eine folgende konstante Exposition. Durchaus denkbar wären auch Übertragungseffekte der Exposition gegenüber unterschiedlichen Substanzen.

Der Faktor Workload hat offenbar nur geringe Auswirkungen auf subjektive Einschätzungen, vor allem auf die Angaben zur Nasenreizung. Das ist im Hinblick auf die erhöhte Atemfrequenz bei Workload durchaus plausibel, da durch die zunächst verstärkte Nasenatmung auch potentiell mehr Ameisensäure die Nase erreicht. Die Änderung in den FeNO-Werten in Folge von Workload ist zwar statistisch bedeutsam, aber der Wirkmechanismus ist unklar. Eine Abhängigkeit dieses Effekts von der Exposition ist nicht erkennbar.

Dem Faktor Allergie konnte kein großer Einfluss auf die subjektiven Einschätzungen nachgewiesen werden. Lediglich bei der Lidschlussfrequenz gibt es einen Einfluss der

Ameisensäure-Exposition auf die Lidschlussfrequenz der Allergiker. Hier wurde bei dieser Gruppen mit einer a priori erhöhten Empfindlichkeit ein stärkerer Anstieg von Beginn zum Ende der MAK-Exposition im Vergleich zu den Kontrollpersonen beobachtet.

7 Aktueller Umsetzungs- und Verwertungsplan

Die Umsetzung und Verwertung der Ergebnisse erfolgt überwiegend durch deren Berücksichtigung bei der Ableitung von Arbeitsplatzgrenzwerten durch die DFG MAK-Kommission und den UAIII des Ausschusses für Gefahrstoffe (AGS). Neben den konkreten und umfangreichen Ergebnissen zum Arbeitsstoff Ameisensäure, dessen MAK-Wert nun auf Basis von aktuellen Humandaten abgeleitet und ggf. angepasst werden kann, erfolgt die Umsetzung auch auf einer allgemeineren Ebene. Das Forschungsvorhaben wurde initiiert, um wissenschaftliche Defizite bei der Nutzung von Humanstudien bei sensorischen Irritationen zu reduzieren, die vor allem mit der Extrapolation ihrer Ergebnisse auf die reale Arbeitswelt assoziiert sind. Den oben genannten Gremien und Kommissionen der Regulation von Chemikalien am Arbeitsplatz liegen nun detaillierte Informationen über die Einflüsse von (a) interindividuellen Unterschieden zwischen „empfindlichen“ und „gesunden“ Proband*innen, (b) des erhöhten Atemvolumens am Arbeitsplatz, und (c) der reinen Expositionsdauer auf unterschiedliche Endpunkte vor, die sensorische Irritationen erfassen. Alle diese „Unsicherheitsfaktoren“ zeigen in den vorliegenden Experimenten nur sehr schwache, statistisch oft nicht signifikante Einflüsse. Dennoch ergeben sich aus diesen und vorangegangenen Reizstoff-Experimenten Hinweise, dass bei Humanstudien, die kleine, geschlechtshomogene Gruppen untersucht haben, und deren Expositionsszenarien keine Konzentrationsspitzen beinhielten, gewisse „Unsicherheiten“ bei der Übertragung auf den Arbeitsplatz bestehen. Diese „Unsicherheiten“ sind qualitativ eher als gering einzuschätzen und eine exakte Quantifizierung ist allein auf Basis dieses Forschungsvorhabens nicht möglich. Die bisherigen Ergebnisse legen jedoch recht eindeutig nahe, dass auf eine Zeitextrapolation von 4 auf 8 Stunden verzichtet werden kann, da sensorische Irritationen vor allem konzentrationsabhängig sind. Gut durchgeführte Humanstudien, die mit validen Methoden und auf mehreren Ebenen sensorische Irritationen erfassen und aus denen eine NOAEC abgeleitet werden kann, können daher ohne weitere Zeitextrapolation für die Ableitung von Arbeitsplatzgrenzwerten genutzt werden.

Eine abschließende Bewertung zur Implementierung von notwendigen Extrapolationsfaktoren obliegt den Gremien der regulatorischen Toxikologie, deren Entscheidungsgrundlage durch dieses Forschungsprojekt erheblich erweitert werden konnte.

Die Ergebnisse der im Rahmen des Forschungsvorhabens durchgeführten Experimente wurden bisher noch nicht zur Publikation eingereicht. Es liegen Entwürfe englischsprachiger Manuskripte vor, die eingereicht werden sollen, wenn zell-biologische Experimente zur möglichen Sekretion von HMGB1 aus peripheren Neuronen abgeschlossen sind. Sollte sich hier die Vermutung bestätigen, dass Reizstoffe über bisher unbekannte Signalwege die Ausschüttung dieses Alarmins aus Neuronen hervorrufen, so wäre das ein bisher unbekannter Signalweg in der Interaktion von Nerven- und Immunsystem. Die Interpretation der durchgängigen, wenn auch schwachen Erhöhung dieses Markers in den Experimenten des Forschungsprojektes wäre so deutlich vereinfacht und weniger „spekulativ“.

Die Publikationsstrategie sieht die getrennte Veröffentlichung der Experimente der verschiedenen Module vor und eine zusammenfassende Beschreibung der Ergebnisse, vergleichbar mit diesem Abschlussbericht vor. Es werden Publikationen in internationalen, peer-reviewten Zeitschriften angestrebt.

8 Anhang

8.1 Messmethoden

8.1.1 Physiologische Methoden

8.1.1.1 Lidschlussfrequenzmessung

Messung der Aktivierung des Orbis Ocularis; Identifikation und Auszählung unwillkürlicher Lidschlüsse.

Einschluss-/Ausschlusskriterien:

Lidschlussfrequenzen von VPs liegen im Mittel in Situationen ohne Exposition in der Umgebungsluft, physiologisch relevanter Luftfeuchtigkeit und bei aktiven Tasks im Bereich von 2 - 16 min⁻¹ (Wolkoff et al. 2003; Ernstgård et al. 2006; Skotte et al. 2007; Himebaugh et al. 2009). Falls einzelne VPs während der Kontrollbedingung in einem Experiment am IfADo mit ihrer Lidschlussfrequenz den oberen Wert dieses Bereiches kontinuierlich um mehr als 100 % überschritten (Lidschlussfrequenz ≥ 33 min⁻¹), wurden sie als Ausreißer betrachtet und von der weiteren Analyse ausgeschlossen, da derart hohe Lidschlussfrequenzen unter Kontrollbedingungen darauf schließen lassen, dass bei diesen wenigen VPs (Anteil gemittelt über alle vier Experimente 7,4 %) entweder

- a) physiologische Gründe für eine stark erhöhte Lidschlussfrequenz vorlagen oder sie
- b) von der zu bearbeitenden Aufgabe (Mackworth-Uhr-Test) in ihrem Lidschlussverhalten beeinflusst wurden.

Beide Gründe sprechen dagegen, solches Datenmaterial in Aussagen zum Gefährdungspotential von Arbeitsstoffen einzubeziehen.

8.1.1.2 Analyse der Nasalen Lavage-Flüssigkeit (NALF)

Einfüllen von 10 ml PBS-Lösung in die Nase; Verbleib (10 s) in der Nase; Auffangen der Nasalen Lavage Flüssigkeit und sofortige Kühlung (4°C). Auswertung mittels Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA)-Kit.

8.1.1.2.1 Substanz P

Neuropeptid; Freisetzung durch starke Reizung freier Nervenendigungen des n. Trigemimus; Modulator bei Entzündungen; Indikator für entzündliche Prozesse in der Nase

8.1.1.2.2 High-Mobility-Group-Protein B1 (HMGB1)

DNA-bindendes Protein; Wird von nekrotischen Zellen freigesetzt; offenbar auch in freien Nervenendigungen in Vesikeln vorhanden; eigene Untersuchungen zeigen eine Freisetzung bei Ameisensäure-Exposition

8.1.1.2.3 Interleukin 10 (IL-10)

Peptidhormone, Zytokine: anti-inflammatorisches Protein, das vor allem von Monozyten und von TH2-Lymphozyten ausgeschüttet wird und eines der wichtigsten antientzündlichen Zytokine ist

8.1.1.3 Akustische Rhinometrie

Querschnittsmessung der Nasenhöhle in Abhängigkeit vom Abstand zum Naseneingang; Hinweise auf obstruktive Veränderungen und deren Lage

- Minimal Cross-sectional Area 1 (MCA1): Querschnittsfläche in der Nase in Höhe des Osatium internum nasi (1. Engstelle)
- Minimal Cross-sectional Area 2 (MCA2): Querschnittsfläche in der Nase in Höhe der unteren Muschel und Septumschwellkörper (2. Engstelle)
- VOL1: Volumen zwischen MCA1 und MCA2
- VOL2: Volumen zwischen MCA1 und einer Distanz von 5 cm zum Ostium externum⁷

8.1.1.4 Rhinomanometrie

Messverfahren zur Bestimmung des Luftdurchflusses der Nase beim Atmen mit Hilfe des Differenzdrucks zwischen Nasenloch und Choane; Hinweise auf Obstruktionen der Nase

8.1.1.5 Fraktioniertes exhalierendes Stickoxid (FeNO)

Indikator für Inflammation in den mittleren und unteren Atemwegen

⁷ <https://www.otoprnt.de/fileadmin/otoprnt-resources/pdf/Warum-RhinoSys.pdf>

8.1.2 Subjektive Einschätzungen

8.1.2.1 *Labeled Magnitude Scale (LMS)*

Empfindungsstärken, Labeled magnitude scale (LMS; Green et al., 1996)

11 chemosensorische Empfindungen: Geruchsintensität, Lästigkeit, Ekel-erregend, stechend, brennend, Nasenreizung, prickelnd, scharf, Niesreiz-erregend, Augenreizung, kitzelnd

8.1.2.2 *Swedish Performance Evaluation System (SPES)*

Akute Symptome (Swedish Performance Evaluation System, SPES; vgl. Iregren, 1998)

29 Symptome, 7 Symptombereiche: Geruchssymptome, präanarkotische Symptome, Irritation, Geschmackssymptome, respiratorische Symptome, Augensymptome

8.1.2.3 *Befinden*

Das allgemeine Befinden wird über Begriffspaare abgefragt:

Entspannt vs. angespannt, wach vs. müde, beschwerdefrei vs. starke Beschwerden, nicht lästig vs. lästig

Zwischen den Gegensatzpaaren befindet sich eine 7-stufige Skala, deren Enden die jeweiligen Begriffe bilden (z.B. 1 = sehr entspannt und 7 = sehr angespannt). Eine Einordnung des eigenen Empfindens soll auf dieser Skala durchgeführt werden.

8.1.3 Verhalten

8.1.3.1 *Arbeitsgedächtnis-Test*

n-Back Aufgabe: Sequentielle Materialdarbietung (Punktpositionen, Objekte). Reaktion bei Übereinstimmung mit vorletzter (2-back Aufgabe) bzw. drittletzter (3-back Aufgabe) Darbietung

8.1.3.2 *Test zur geteilten Aufmerksamkeit*

Reaktionsverhalten bei gleichzeitig ablaufenden visuellen und akustischen Aufgaben; Proband*innen sollen einen Reaktionsknopf drücken, wenn auf dem Monitor bei variierenden

visuellen Mustern 4 Kreuze ein Quadrat bilden und wenn zwei gleiche Töne in einer alternierenden Sequenz abgespielt werden

8.1.3.3 Flankierreiz-Aufgabe

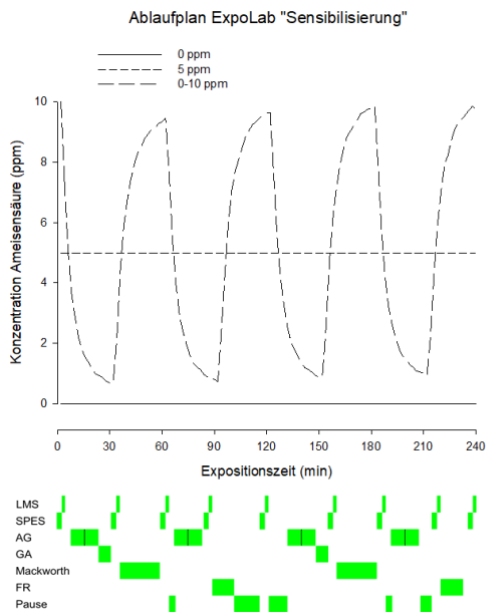
Ericson flanker task modifiziert durch Kopp et al. (1996): Reaktionen mit rechter und linker Hand gemäß angezeigter Pfeilrichtung, Störung durch flankierende Hinweisreize

8.1.3.4 Mackworth-Uhr-Test

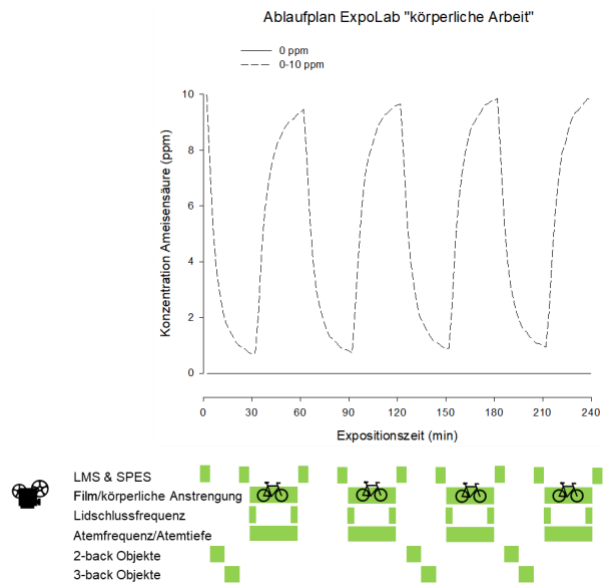
Auf dem Bildschirm springt ein gelber Punkt im Uhrzeigersinn von einer rot markierten Position zur nächsten. Die Proband*innen sollen reagieren, wenn eine rote Position übersprungen wird.

8.2 Ablaufpläne

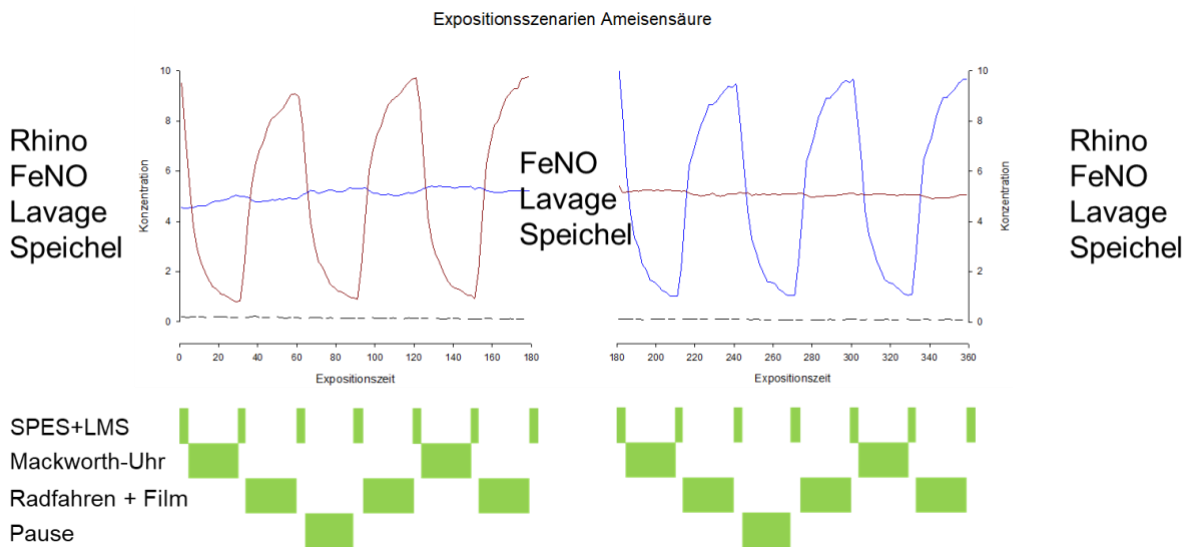
Experiment „Sensibilisierung“



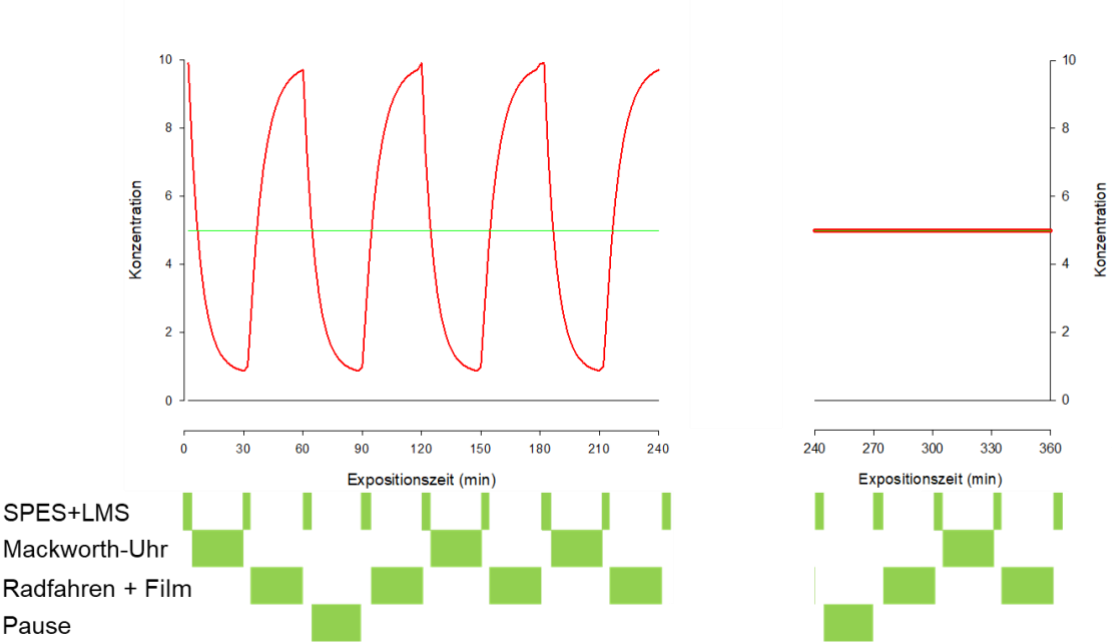
Experiment „körperliche Arbeit“



Experiment „Akute Effektverläufe 3+3“



Experiment „Akute Effektverläufe 4+2“



8.3 Übersicht ausgewählter, signifikanter Effekte in den Einzalexperimenten⁸

		Erleben			Physiologie					
		LMS	SPES	Befinden	Lidschlüsse	Atem	Rhino	FeNO	NALF	
2017	Exposition	alle	alle	Alle außer wach/müde	-	/	MCA2, Vol1, Vol2	-		
	Expositionsdauer	alle außer Niesreiz	alle außer respiratorisch	alle	+		Differenz	Differenz	SP: Effekt nur bei 0-10 ppm HMGB1: Bei 5 ppm und 0-10 ppm	
	Allergie	-	-	-	-		-	-	-	
	Allergie*	-	Expodauer: respiratorisch	-	Expodauer		-	Expo: geringe Effekte		
2018	Exposition	alle	alle	Alle außer wach/müde	-	-	-	-	-	
	Expositionsdauer	alle	Alle außer respiratorisch	alle	+	-	Differenz	Differenz	HMGB1: Bei 0-10 ppm	
	Workload	Brennend, (Nasenreizung)	Gustatorisch, ocular	Wach/müde	-	+	-	-	-	
	Workload*	Expodauer: brennend, Nasenreizung	Expodauer: nasal	Expo u. -dauer: wach/müde	Expodauer	Expodauer	-	-	-	
2019	Exposition	alle	Olfaktorisch, nasal, okular	Alle außer wach/müde	+	-	-	-	-	
	Expositionsdauer	alle	Alle außer respiratorisch	alle	+	-	-	-	HMGB1: Nach 0-10 ppm	
	Reihenfolge (5 ppm)	Alle außer Ekel	Pränarkotisch, Irritation, nasal, okular	alle	-	-	-	-	-	
2020/21	Exposition	Alle außer Ekel	Nasal, olfaktorisch	Beschwerdefrei/ Beschwerden, nicht lästig, lästig	-	-	-	-	-	
	Expositionsdauer	Alle außer Ekel	Alle außer respiratorisch	alle	+	-	-	-	HMGB1: Nach 0-10 ppm	
	Reihenfolge	Nicht parametrisch auswertbar			-	-	-	-	-	

⁸ Aus Gründen der Übersichtlichkeit wurde auf die Darstellung des Haupteffekts Geschlecht und der Interaktion zwischen Exposition und Expositionsdauer verzichtet

9 Literaturverzeichnis

- Brüning T, Bartsch R, Bolt HM, et al (2014) Sensory irritation as a basis for setting occupational exposure limits. *Arch Toxicol* 88:1855–79. <https://doi.org/10.1007/s00204-014-1346-z>
- Ernstgård L, Iregren A, Sjögren B, Johanson G (2006) Acute effects of exposure to vapours of acetic acid in humans. *Toxicol Lett* 165:22–30. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2006.01.010>
- Green BG, Dalton P, Cowart B, et al (1996) Evaluating the “Labeled Magnitude Scale” for measuring sensations of taste and smell. *Chem Senses* 21:323–34. <https://doi.org/10.1093/chemse/21.3.313>
- Hartwig A, MAK-Kommission (2017) Erhöhtes Atemvolumen am Arbeitsplatz – Bedeutung für die MAK-Wert-Ableitung bei Stoffen mit systemischer Wirkung [MAK Value Documentation in German language, 2017]. In: *The MAK-Collection for Occupational Health and Safety*. John Wiley & Sons, Ltd, pp 34–40
- Himebaugh NL, Begley CG, Bradley A, Wilkinson JA (2009) Blinking and Tear Break-Up During Four Visual Tasks. *Optom Vis Sci* 86:E106–14. <https://doi.org/10.1097/OPX.0b013e318194e962>
- Iregren A (1998) Computer-assisted testing. In: Costa LG, Manzo L (eds) *Occupational Neurotoxicology*. CRC Press, Boca Raton, pp 213–232
- Karvonen T, Lehtimäki L (2020) Repeatability and variation of the flow independent nitric oxide parameters. *J Breath Res* 14:026002. <https://doi.org/10.1088/1752-7163/ab4784>
- Kiesswetter E, van Thriel C, Schäper M, et al (2005) Eye blinks as indicator for sensory irritation during constant and peak exposures to 2-ethylhexanol. *Environm Toxicol Pharmacol* 19:531–541. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2004.12.056>
- Kleinbeck S, Juran SA, Kiesswetter E, et al (2008) Evaluation of ethyl acetate on three dimensions: investigation of behavioral, physiological and psychological indicators of adverse chemosensory effects. *Toxicol Lett* 182:102–9. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2008.09.001>
- Kleinbeck S, Schäper M, Pacharra M, et al (2020) A short-term inhalation study to assess the reversibility of sensory irritation in human volunteers. *Arch Toxicol* 15. <https://doi.org/10.1007/s00204-020-02703-8>
- Kleinbeck S, Schäper M, Zimmermann A, et al (2017) Prediction of human sensory irritation due to ethyl acrylate: The appropriateness of time weighted average concentration x time models for varying concentrations. *Arch Toxicol* 91:3051–3064. <https://doi.org/10.1007/s00204-017-1934-9>

- Lakens D (2013) Calculating and reporting effect sizes to facilitate cumulative science: a practical primer for t-tests and ANOVAs. *Front Psychol* 4:. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2013.00863>
- Laska M, Distel H, Hudson R (1997) Trigeminal perception of odorant quality in congenitally anosmic subjects. *Chem Senses* 22:447–56. <https://doi.org/10.1093/chemse/22.4.447>
- MAK-Kommission (2012) Ameisensäure [MAK Value Documentation in German language, 1997]. In: The MAK-Collection for Occupational Health and Safety. John Wiley & Sons, Ltd, pp 1–9
- Mattes RD (2002) The chemical senses and nutrition in aging: challenging old assumptions. *J Am Diet Assoc* 102:192–6. [https://doi.org/10.1016/s0002-8223\(02\)90047-7](https://doi.org/10.1016/s0002-8223(02)90047-7)
- Min HJ, Kim SJ, Kim TH, et al (2015) Level of secreted HMGB1 correlates with severity of inflammation in chronic rhinosinusitis. *The Laryngoscope* 125:E225–E230. <https://doi.org/10.1002/lary.25172>
- Nielsen GD, Wolkoff P (2017) Evaluation of airborne sensory irritants for setting exposure limits or guidelines: A systematic approach. *Regul Toxicol Pharmacol* 90:308–317. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2017.09.015>
- Pacharra M, Kleinbeck S, Schäper M, et al (2017) Does seasonal allergic rhinitis increase sensitivity to ammonia exposure? *Int J Hyg Env Health* 220:840–848. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2017.03.013>
- Salpietro C, Cuppari C, Grasso L, et al (2013) Nasal high-mobility group box-1 protein in children with allergic rhinitis. *Int Arch Allergy Immunol* 161:116–21. <https://doi.org/10.1159/000345246>
- Seeber A, Blaszkewicz M, Golka K, Kiesswetter, E. E (1997) Solvent exposure and ratings of well-being: dose-effect relationships and consistency of data. *Env Res* 73:81–91. <https://doi.org/10.1006/enrs.1997.3711>
- Seeber A, van Thriel C, Haumann K, et al (2002) Psychological reactions related to chemosensory irritation. *Int Arch Occup Env Health* 75:314–25. <https://doi.org/10.1007/s00420-002-0316-6>
- Shusterman D (2007) Trigeminally-mediated health effects of air pollutants: sources of inter-individual variability. *Hum Exp Toxicol* 26:149–57. <https://doi.org/10.1177/0960327107070550>
- Shusterman D, Matovinovic E, Salmon A (2006) Does Haber’s law apply to human sensory irritation? *Inhal Toxicol* 18:457–71. <https://doi.org/10.1080/08958370600602322>
- Skotte JH, Nojgaard JK, Jørgensen, L. V. LV, et al (2007) Eye blink frequency during different computer tasks quantified by electrooculography. *Eur J Appl Physiol* 99:113–9. <https://doi.org/10.1007/s00421-006-0322-6>

- Stark H, Purokivi M, Kiviranta J, et al (2007) Short-term and seasonal variations of exhaled and nasal NO in healthy subjects. *Respir Med* 101:265–271. <https://doi.org/10.1016/j.rmed.2006.05.009>
- Stensrud T, Stang J, Thorsen E, Braten V (2016) Exhaled nitric oxide concentration in the period of 60 min after submaximal exercise in the cold. *Clin Physiol Funct Imaging* 36:85–91. <https://doi.org/10.1111/cpf.12196>
- Wolkoff P, Skov P, Franck C, Petersen LN (2003) Eye irritation and environmental factors in the office environment--hypotheses, causes and a physiological model. *Scand J Work Env Health* 29:411–30. <https://doi.org/10.5271/sjweh.748>
- Yang H, Andersson U, Brines M (2021) Neurons Are a Primary Driver of Inflammation via Release of HMGB1. *Cells* 10:. <https://doi.org/10.3390/cells10102791>