

Aus der Medizinischen Klinik I
der Universität zu Lübeck
Direktor: Prof. Dr. H. L. Fehm

Inhibition der oxydativen Phosphorylierung in MX1- und S117-Tumorzellen in der Zellkultur durch den Ifosfamidmetaboliten Chloracetaldehyd

Inauguraldissertation

zur Erlangung der Doktorwürde
der Universität zu Lübeck

- Aus der Medizinischen Fakultät -

vorgelegt von
Jürgen Hinrichs
aus Köln

Lübeck 2005

1. Berichterstatter:	Prof. Dr. med. Thomas Wagner
2. Berichterstatter:	Prof. Dr. med. Claus-Peter Siegers

Tag der mündlichen Prüfung:	28.11.2005
Zum Druck genehmigt. Lübeck, den	28.11.2005

gez. Prof. Dr. med. Wolfgang Jelkmann
- Dekan der Medizinischen Fakultät -

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	4
Tabellenverzeichnis	5
1 Einleitung	6
2 Material und Methoden	9
2.1 Zellreihen und -kultur	9
2.2 Behandlung der Zellkulturen	10
2.2.1 Chloracetaldehyd	10
2.2.2 Oligomycin A	10
2.2.3 Fluoracetat	11
2.2.4 Aminooxoacetat	11
2.2.5 Reagenzienzugabe und Inkubation	11
2.3 ATP-Messung mit Biolumineszenzverfahren	12
2.3.1 Grundlagen	12
2.3.2 Praktische Durchführung	12
2.4 ATP-Extraktion in der Zellkultur	13
2.4.1 Extraktion mit siedender Trispufferlösung	14
2.4.2 Extraktion mit 10% Trichloressigsäure	15
2.4.3 Extraktion mit 3mol/l Perchlorsäure	15
2.5 Intrazelluläre ATP-Konzentration ex vivo	16
2.6 ATP-Extraktion in vivo	17
2.6.1 Versuchstiere	17
2.6.2 Narkose	17

2.6.3	Tumor und Transplantation	17
2.6.4	Entnahme von Tumor- und Muskelgewebe	18
2.7	Gewebe-ATP-Spiegel in vivo	18
2.8	Statistik	18
3	Ergebnisse	20
3.1	Vergleich der ex-vivo-Extraktionsverfahren	20
3.1.1	Praktische Durchführbarkeit	20
3.1.2	Reproduzierbarkeit der Messwerte	20
3.1.3	Störempfindlichkeit	21
3.1.4	Stabilität der Extrakte	22
3.1.5	Empfindlichkeit und Proportionalität	23
3.1.6	Wahl des Verfahrens	24
3.2	ATP-Spiegel in vivo und ex vivo	25
3.2.1	Beeinflussung durch Aussaat in der Zellkultur	25
3.2.2	Intrazelluläre ATP-Konzentration in der Zellkultur	26
3.2.3	ATP-Gewebekonzentration im Tumoxenograft	26
3.3	ATP-Spiegel unter Behandlung	27
3.3.1	Chloracetaldehyd	27
3.3.2	Fluoracetat	27
3.3.3	Oligomycin	28
3.4	ATP-Spiegel unter Behandlung bei blockierter anaerober Glykolyse	29
3.4.1	Aminooxoacetat	29
3.4.2	Chloracetaldehyd und Aminooxoacetat	30
3.4.3	Fluoracetat und Aminooxoacetat	31
3.4.4	Oligomycin und Aminooxoacetat	32
4	Diskussion	33
4.1	Wirkmechanismus von Chloracetaldehyd	33
4.2	Mögliche klinische Bedeutung	36
5	Zusammenfassung	38
	Literaturverzeichnis	40

A	Abkürzungen	48
B	Messwerttabellen	49
B.1	Rohdaten der Messungen zum Vergleich der Extraktionsverfahren . .	49
B.2	Rohdaten der Messungen zur Bestimmung der absoluten ATP-Konzentrationen	51
B.3	Rohdaten der ATP-Messungen an MX1-Zellen	53
B.4	Rohdaten der ATP-Messungen an S117-Zellen	66
C	Danksagung	79
D	Lebenslauf	80

Abbildungsverzeichnis

1	Vergleich der Störemfindlichkeit der Extraktionsverfahren	22
2	Stabilität der ATP-Extrakte und Vergleich von Linearität und Empfindlichkeit der Extraktionsverfahren	23
3	ATP-Spiegel von MX1-Zellen im zeitlichen Verlauf über 210min nach Aussaat	25
4	ATP-Spiegel von MX1-Zellen unter Inkubation mit Chloracetaldehyd, Fluoracetat und Oligomycin	28
5	ATP-Spiegel von S117-Zellen unter Inkubation mit Chloracetaldehyd, Fluoracetat und Oligomycin	29
6	ATP-Spiegel von MX1-Zellen unter Inkubation mit Chloracetaldehyd, Fluoracetat und Oligomycin in Kombination mit 100mmol/l Amino-oxoacetat	30
7	ATP-Spiegel von S117-Zellen unter Inkubation mit Chloracetaldehyd, Fluoracetat und Oligomycin in Kombination mit 100mmol/l Amino-oxoacetat	31

Tabellenverzeichnis

1	Vergleich der Reproduzierbarkeit der Extraktionsverfahren	21
2	Intrazelluläre ATP-Konzentrationen in der Zellkultur bei MX1- und S117-Zellen	26
3	ATP-Gewebekonzentration im MX1-Tumoxenograft und im vom sel- ben Blutgefäß versorgten Muskel an der Nacktmaus	27

1

Einleitung

In der Geschichte der Therapie maligner Tumoren gab es über lange Zeit nur die Möglichkeit einer lokalen Behandlung durch chirurgische Eingriffe oder Bestrahlung. Nichtlokalisierte oder metastasierte Tumoren waren somit einer Therapie kaum zugänglich. Erst die Entwicklung systemisch wirksamer Pharmaka brachte eine erhebliche Erweiterung der therapeutischen Möglichkeiten in der Tumorbehandlung und leistete einen wesentlichen Beitrag zu den heute erreichbaren Behandlungsergebnissen [48].

Auch wenn es eine Reihe von Tumoren gibt, bei denen durch eine geeignete Chemotherapie zu einem hohem Anteil eine Heilung erreicht werden kann, so sind doch die großen Erwartungen in eine pharmakologische Tumorthherapie bislang nicht erfüllt worden. Der überwiegende Anteil der Tumorerkrankungen ist einer kurativen Chemotherapie nicht zugänglich, hier zielt die Therapie auf eine Verbesserung der Lebensqualität oder auch Lebensverlängerung im Sinne einer palliativen Therapie.

Aber auch heute stellt die Chemotherapie trotz der Entwicklung neuer gentherapeutischer [18] und immunologischer [43] Ansätze neben der operativen und der Strahlentherapie in der klinischen Praxis einen wesentlichen Bestandteil der Therapie maligner Neubildungen dar. Das gemeinsame Charakteristikum wirksamer Chemotherapeutika in der Tumorbehandlung ist die höhere Toxizität dieser Wirkstoffe für Tumorzellen als für gesunde Zellen. Gewöhnlich werden Zytostatika aufgrund ihres Wirkmechanismus eingeteilt, auch wenn sich nicht alle Zytostatika auf diese Weise einordnen lassen.

Antimetaboliten wirken, indem sie als “falsche Substrate” wichtige Stoffwechselwege der Tumorzellen hemmen [12]. Es handelt sich bei ihnen im wesentlichen um Stoffe, die aufgrund ihrer Affinität zu Enzymen der Biosynthese von Nukleinsäurebasen wirken. Der Wirkmechanismus der Mitosehemmer beruht auf einer Hemmung der Mikrotubuli [61]. Sie binden in niedrigen Konzentrationen an die Proteine des Spindelapparates und hemmen die Zellteilung in der Metaphase [48].

Ifosfamid und Cyclophosphamid sind alkylierende Zytostatika aus der Gruppe der Oxazaphosphorine, deren spezifische Wirkung über die 4-Hydroxy-Metabolite vermittelt wird. Nur beim Ifosfamid entsteht in größerem Umfang der Metabolit Chloracetaldehyd [20, 22, 36, 37, 70], der bislang im wesentlichen für die höhere Nephro- [14, 45, 56, 57, 72, 74] und Neurotoxizität [53] von Ifosfamid verantwortlich gemacht wurde. Untersuchungen unserer Arbeitsgruppe haben jedoch gezeigt, dass Chloracetaldehyd eine ebenso ausgeprägte Zytotoxizität auf Tumorzellen aufweist wie der Metabolit 4-Hydroxy-Ifosfamid [4, 5, 6].

Chloracetaldehyd ist aus der chemischen Industrie als Grundstoff bekannt, daher liegen pharmakologische Untersuchungen vor, die eine Hemmung der oxidativen Phosphorylierung durch Chloracetaldehyd vermuten lassen [13, 54]. Weiterhin sind für Chloracetaldehyd in mehreren Untersuchungen zur Nephro- und Neurotoxizität eine Senkung der Glutathionspiegel [39, 42, 45, 53, 70], eine alkylierende Wirkung [33, 55] und eine Beeinflussung des Fettsäurestoffwechsels [69] nachgewiesen worden.

Die bisherigen Konzepte in der Chemotherapie maligner Erkrankungen zielen auf die DNA und den Mitoseapparat als zytostatisches Target. Trotz unterschiedlicher Angriffspunkte ist das gemeinsame therapeutische Prinzip von Alkylantien, Topoisomerasehemmern, Vincaalkaloiden und Taxanen sowie von Antimetaboliten, dass sie eine Wirkung nur auf proliferierende Zellen ausüben. Bei soliden Tumoren mit größeren hypoxischen Anteilen [26, 64, 66, 67] mit einem hohen Anteil an G₀-Zellen stößt dieses Prinzip an seine Grenzen [8, 19, 47, 52].

Obwohl es Untersuchungen zur Tumoradaptation an die Hypoxie und zur Ausnutzung dieser Mechanismen für die Therapie gibt [3, 15, 24, 25], hat der denkbare Therapieansatz einer Schädigung der oxydativen Phosphorylierung bisher nur wenig Beachtung gefunden. Es konnte jedoch gezeigt werden, dass das Rhodacyaninderi-

vat MKT-077 relativ selektiv Mitochondrien von Karzinomzellen schädigt und zu einer erheblichen Beeinträchtigung der oxydativen Phosphorylierung führt [44, 71]. In einer weiteren Arbeit konnte gezeigt werden, dass MKT-077 in vitro und in vivo eine hohe Zytotoxizität gegenüber menschlichen Adenokarzinomen aufweist, die normalerweise auf antiproliferative Zytostatika kaum ansprechen [34]. Ähnliche Ergebnisse gibt es auch für den Bestandteil des Baumwollsamens Gossypol, für den eine Inhibition sowohl der anaeroben [38, 60] als auch der aeroben [65] Glykolyse beschrieben wurde. Auch dieser Wirkstoff zeigt eine zytotoxische Wirkung gegenüber epithelialen Tumoren [1, 10, 29].

Bei dem Ifosfamid-Metaboliten Chloracetaldehyd handelt es sich also möglicherweise um eine Substanz, deren zytotoxische Wirkung sowohl auf einer Alkylierung [33, 55], einem Abfall des intrazellulären Glutathionpools [39, 42] aber eben auch auf einer Störung der mitochondrialen Atmung [54] beruhen könnte. Ein möglicher pathobiochemischer Mechanismus für letzteres könnte die Bildung von Chloracetyl-CoA und die so vermittelte Einschleusung des Chloracetaldehyds in den Tricarbonsäurezyklus sein, analog zu dem Effekt der “letalen Synthese”, der für das Fluoracetoacetat gezeigt werden konnte [7, 49, 62]. Derzeit ist jedoch noch unklar, welchen Anteil diese möglichen Wirkmechanismen an der zytotoxischen Wirkung des Chloracetaldehyds gegenüber Tumorzellen haben. Das Ziel der vorliegenden Untersuchung ist es, die Frage zu beantworten, wie die oxydative Phosphorylierung, gemessen am intrazellulären ATP-Gehalt, von MX1- und S117-Zellen ex vivo durch Chloracetaldehyd beeinflusst wird.

2

Material und Methoden

2.1 Zellreihen und -kultur

Die vorliegende Untersuchung wurde an den in unserem Labor etablierten humanen Tumorzelllinien MX1 (adhärent wachsendes Mammakarzinom) und S117 (adhärent wachsendes Sarkom), beide aus dem DKFZ Heidelberg, durchgeführt. Die Zellen wurden in 200ml-Kulturflaschen (Nunclon, Wiesbaden, Deutschland) in RPMI-1640 Kulturmedium (Bio-Whittaker, Versiene, Belgien), dem 1ml einer Penicillin-Streptomycin-Mischung (Bioproducts, Boehringer Ingelheim, Deutschland) mit 10000U/ml Penicillin und 10mg/ml Streptomycin sowie 50ml fetales Kälberserum (PAA Laboratories GmbH, Cölbe, Deutschland) zugesetzt wurden, bei 37°C unter 5% CO₂ im Brutschrank (water-jecked-incubator, Forma Scientific, Ohio, USA) kultiviert.

Zwei- bis dreimal pro Woche wurden die Zellen mikroskopisch beurteilt und in frisches Medium überführt. Nach vorsichtigem Absaugen des Mediums aus den Kulturflaschen und Spülen mit 8ml 0,9% NaCl (Fresenius, Deutschland) wurden hierzu 10ml 0,9% NaCl und 1ml Trypsin (Bio Whittaker, Versiene, Belgien) in die Kulturflaschen pipettiert. Sobald die Zellen vollständig abgelöst waren, wurden 4ml Kulturmedium dazugegeben, um die Reaktion abzustoppen. Anschließend wurde der Flascheninhalt in ein 50ml Falconröhrchen (Sarstedt, Deutschland) überführt und dieses dann drei Minuten bei 300×g (S117-Zellen) bzw. 400×g (MX1-Zellen) zentrifugiert (Megafuge 1.0, Haereus, Deutschland).

Der Überstand wurde abgesaugt, die Zellpellets mit frischem Medium resuspendiert und in neue Kulturflaschen ausgesät.

2.2 Behandlung der Zellkulturen

Nach dem Lösen der Zellen aus den Kulturflaschen, Zentrifugation und anschließender Resuspension in 6ml Kulturmedium, wie oben beschrieben, wurde die Zelldichte der Suspension in der Neubauer-Zählkammer bestimmt. Anschließend wurde die Zellsuspension mit Medium auf eine Zelldichte von 10^5 Zellen/ml eingestellt. Je $100\mu\text{l}$ hiervon wurden sodann in je 12 Vertiefungen von fünf 96-Well-Mikrotiterplatten pipettiert, so dass sich eine Zellzahl von 10000 Zellen je Vertiefung ergab. Anschließend wurden die Platten 24h bei 37°C und 5% CO_2 im Brutschrank inkubiert.

2.2.1 Chloracetaldehyd

Chloracetaldehyd (wie alle hier aufgeführten Reagenzien: Sigma-Aldrich Chemical Co., Steinheim, Deutschland) wurde mit 0,9%iger Kochsalzlösung auf die gewünschten Konzentrationen verdünnt. Die Chloracetaldehydlösung wurde vor jedem Versuch frisch angesetzt.

2.2.2 Oligomycin A

Bei Oligomycin A handelt es sich um eine Substanz, die die oxydative Phosphorylierung über eine Inhibition der $\text{F}_0\text{F}_1\text{-ATPase}$ hemmt [41]. Oligomycin A wurde zunächst in DMSO gelöst, mit aqua dest. auf eine Konzentration von $1200\mu\text{mol/l}$ verdünnt und anschließend portioniert bei -18°C tiefgefroren. Vor jedem Versuch wurde dann die benötigte Menge aufgetaut und mit aqua dest. auf die gewünschte Verdünnung eingestellt.

2.2.3 Fluoracetat

Der Wirkmechanismus von Fluoracetoacetat beruht auf der Bildung von Fluoracetyl-CoA und damit zu einer Einschleusung des Fluoracetoacetat in den Tricarbonsäurezyklus [49, 62]. Die Fluoracetatlösung wurde mit aqua dest. vor jedem Versuch frisch angesetzt, auf die Herstellung von Fluoracetaldehyd wurde wegen des sehr aufwändigen Verfahrens verzichtet, für Fluoracetat ist jedoch schon früh ein vergleichbarer Effekt gezeigt worden [7].

2.2.4 Aminooxoacetat

Ebenso wurde mit dem Aminooxoacetat, einem Inhibitor der Lactatdehydrogenase, der in der Lage ist, die anaerobe Glykolyse in Tumorzellen wirksam zu inhibieren [23], verfahren. Sollte Aminooxoacetat mit einem anderen Reagens kombiniert werden, so wurden beide Lösungen in der doppelten Konzentration hergestellt und vor der Zugabe zu den Zellen zu gleichen Teilen vermischt.

2.2.5 Reagenzienzugabe und Inkubation

Unmittelbar vor dem Versuch wurden die Reagenzien wie oben gelöst bzw. aufgetaut und auf die zuzugebende Konzentration verdünnt. Von dieser Lösung wurden dann jeweils 20 μ l in je drei Vertiefungen jeder Mikrotiterplatte pipettiert. Unmittelbar anschließend wurden die Platten auf dem Thermomixer gerüttelt und anschließend im Brutschrank unter Standardbedingungen (37°C, 5% CO₂) inkubiert. Nach 5, 15, 30, 60 und 120 min wurde jeweils eine Platte extrahiert, und die fertigen Proben wurden für die Messzeit auf Eis gelagert. Wenn alle Proben vorbereitet waren, erfolgte die Messung.

2.3 ATP-Messung mit Biolumineszenzverfahren

2.3.1 Grundlagen

Die Messung von ATP mittels eines Biolumineszenzverfahrens ist seit längerem etabliert und auch zum quantitativen Nachweis niedriger Konzentrationen gut geeignet [11, 28]. Grundlage des Verfahrens ist die ATP-abhängige, Luciferase-katalysierte Oxydation von D-Luciferin zu Oxyluciferin:



Das pH-Optimum dieser Reaktion liegt im Bereich von pH7,5 [11], die frei werdende Energie wird zu 90% als Licht mit einem Intensitätsmaximum bei einer Wellenlänge im Bereich von 560nm abgestrahlt [11], dieses Licht wird dann in einem Luminometer gemessen. Die zugehörige Michaelisgleichung für die Lichtintensität I lautet:

$$(1) \quad I = V_{max} \frac{cATP}{KM + cATP}$$

Hierbei ist V_{max} die maximale Reaktionsgeschwindigkeit, KM die Michaeliskonstante der Gleichung und $cATP$ die ATP-Konzentration im Reaktionsgemisch. Für den Fall, dass KM sehr groß gegen $cATP$ ist, vereinfacht sich (1) zu:

$$(2) \quad I = V_{max} \frac{cATP}{KM}$$

Da V_{max} und KM Konstanten sind, ist die Lichtintensität I des emittierten Lichtes nur noch von der im Reaktionsgemisch vorhandenen ATP-Konzentration $cATP$ abhängig und dieser direkt proportional.

2.3.2 Praktische Durchführung

Aus *Photinus pyralis* gewonnenes, lyophilisiertes Luciferin und Luciferase ist als fertiges Kit einschließlich eines ATP-Standards kommerziell erhältlich (ATP Bioluminescence Assay Kit CLS II, Roche Biochemicals, Deutschland). Der Messbereich dieses Kits liegt nach Herstellerangaben zwischen 10^{-6} und 10^{-11} mol/l ATP, abhängig auch vom verwendeten Luminometer. Weiterhin ist wegen der in diesem Kit verwendeten relativ geringen Luciferasekonzentration die Reaktionsgeschwindigkeit niedrig, so dass das emittierte Lichtsignal über einen Zeitraum von mindestens 20min

annähernd konstant ist, der ATP-Verbrauch beträgt ca. 0,5%/min (Herstellerangaben).

Nach der Herstellerinformation soll das Volumenverhältnis zwischen Luciferaselösung und Probe 1:1 betragen. Da das Injektionsvolumen bei dem zum Einsatz gekommenen Luminometer (Auto-CliniLumat LB952T, Berthold, USA) fest auf 300 μ l eingestellt ist, wurden von jeder aufbereiteten (s. 2.2) Probe 300 μ l in ein Messreaktionsglas (5ml Kunststoff, Sarstedt, Deutschland) pipettiert.

Das Luminometer wurde auf Rohdatenmessung (raw data), das heißt ohne automatische Datenauswertung im Gerät, mit einer Injektion und einer Messzeit von fünf Sekunden eingestellt. Die Ausgabe der Messdaten erfolgte so in “relative light units” (RLU), diese sind definiert als gezählte Lichtimpulse geteilt durch zehn, multipliziert mit einem Faktor $kRLU$, um Schwankungen der Kathodenempfindlichkeit auszugleichen. Die RLU-Werte sind also nach Gleichung (2) aus 2.3.1 direkt proportional der in der Probe vorhandenen ATP-Konzentration.

Bei jeder Messung wurden außerdem ein Leerwert (nur Kulturmedium, ohne Zellen) sowie ein ATP-Standard mit 5, 10, 20, 30 und 50nmol/l ATP, hergestellt aus in destilliertem Wasser gelösten, zu dem Kit gelieferten, lyophilisierten ATP, mitgeführt. Die so erstellte Eichkurve diente dann zur Linearitätsüberprüfung jeder Messung.

2.4 ATP-Extraktion in der Zellkultur

Einen wesentlichen Schritt bei der Messung von intrazellulären ATP-Konzentrationen stellt die Aufschließung der Zell- und Mitochondrienwände sowie die möglichst vollständige Inaktivierung aller ATP verbrauchenden oder erzeugenden Prozesse durch Eiweißdenaturierung dar, im folgenden “ATP-Extraktion” genannt. An ein geeignetes Verfahren sind eine Reihe von Anforderungen zu stellen (modifiziert nach [58]):

1. Zell- und Mitochondrienmembran sollten möglichst unmittelbar durchbrochen werden.
2. ATP sollte unmittelbar freigesetzt werden.

3. Das gesamte zu bestimmende intrazelluläre ATP sollte vollständig freigesetzt werden.
4. Alle Enzyme, die ATP als Substrat haben oder ATP aus anderen Substraten synthetisieren, sollten unmittelbar und irreversibel inaktiviert werden.
5. Die ATP-Konzentration selbst sollte durch das Verfahren, zum Beispiel durch Hydrolyse, weder kurzfristig bei der Durchführung des Verfahrens, noch langfristig bei Lagerung beeinflusst werden.
6. Die verwendeten Substanzen sollten keinen hemmenden Einfluss auf die Luciferase haben.
7. Die Kinetik der Luciferase-Luciferin-Reaktion sollte nicht beeinflusst werden.
8. Es sollten keine wesentlichen Mengen an Substanzen freigesetzt werden, die ihrerseits die Luciferasereaktion oder die Lichtmessung beeinträchtigen (Quenchingeffekt).
9. Insbesondere für die vorliegende Untersuchung sollte das Verfahren direkt ohne weitere vorbereitende Schritte auf den verwendeten Mikrotiterplatten zum Einsatz kommen.

In der Literatur wird eine Vielzahl von Extraktionsverfahren beschrieben [28, 58] und verglichen. Für die vorliegende Arbeit wurden nach Gesichtspunkten der praktischen Durchführbarkeit drei Verfahren ausgewählt und auf ihre Eignung für die geplanten Versuche untersucht. Wenn nicht anders beschrieben, wurden diese Versuche an MX1-Zellen durchgeführt, die in 100 μ l Kulturmedium in 1,5ml-Reaktionsgefäßen („Safe-Lock“, Eppendorf, Deutschland) in einer Dichte von 10000 Zellen/Cup ausgesät und zwischen Aussaat und Messung vier Stunden im Brutschrank inkubiert wurden.

2.4.1 Extraktion mit siedender Trispufferlösung

Bei diesem, von der Firma Roche Diagnostics, Mannheim, zu ihrem ATP-Kit beschriebenen Verfahren, im folgenden Trispufferverfahren genannt, erfolgte die Proteindenaturierung allein durch Hitze, indem zu den Proben je 900 μ l einer siedenden

den Pufferlösung aus 100mmol/l Tris und 4mmol/l EDTA, entsprechend einem pH von 7,75, pipettiert wurden. In einer früheren Untersuchung hat sich ein ähnliches Verfahren als gleichwertig gegenüber einem erheblich aufwändigeren Verfahren erwiesen [21]. Um eine ausreichende Erhitzung des Mediums zu erreichen, war dieses Volumenverhältnis notwendig, die Kulturgefäße mussten also ein Volumen von über 1ml aufweisen, sollten die Zellen nicht vor der eigentlichen Extraktion noch in ein anderes Probengefäß überführt werden, was nach Möglichkeit zu vermeiden war (s. 2.5). Anschließend wurden die Proben zwei Minuten bei 95°C im Thermomixer (Eppendorf, Deutschland) inkubiert und dann 60s bei 10000×*g* zentrifugiert (Biofuge A, Haereus, Deutschland). Vom Überstand jeder Probe wurden dann 300μl in die Messröhrchen pipettiert.

2.4.2 Extraktion mit 10% Trichloressigsäure

Zu den Zellen wurden 100μl eisgekühlte 10% Trichloressigsäure (TCA) pipettiert, anschließend wurden der Lösung 50μl einer eisgekühlten Neutralisationslösung aus 2mol/l Kalilauge (KOH) und dem oben beschriebenen Trispuffer im Volumenverhältnis KOH:Puffer von 47:3 zugegeben, der pH stellte sich damit auf Werte zwischen 7,5 und 8,3, abhängig vom Ausgangs-pH des Kulturmediums, ein. Von jeder Probe wurden anschließend 100μl zu 400μl der in 2.4.1 beschriebenen Trispufferlösung in 1,5ml-Reaktionsgefäße pipettiert. Nach jedem Pipettierschritt wurden die Proben außerdem im Thermomixer bei 21°C gemischt. Die weitere Probenaufbereitung (Zentrifugation, Messröhrchen) erfolgte wie unter 2.4.1 beschrieben.

2.4.3 Extraktion mit 3mol/l Perchlorsäure

Dieses Verfahren entsprach dem unter 2.4.2 beschriebenen, an Stelle von 10% Trichloressigsäure kam jedoch 3mol/l Perchlorsäure (PCA) zur Verwendung, die Einstellung auf pH 8 wurde mit einer Lösung aus 2mol/l KOH und Trispuffer im Volumenverhältnis 181:19 vorgenommen.

2.5 Intrazelluläre ATP-Konzentration ex vivo

Da anzunehmen war, dass Kulturmedium und Extraktionsverfahren die Lichtausbeute, z.B. durch pH und Absorption, beeinflussten, konnten die Messwerte der aus praktischen Gründen in destilliertem Wasser hergestellten Eichreihe (s. 2.3.2) nicht einfach zur Berechnung der in den Proben vorhandenen und damit auch der intrazellulären ATP-Konzentration herangezogen werden. Zur deren Bestimmung wurden aus in Kulturmedium gelöstem standardisierten ATP Eichreihen erstellt (ohne ATP, 125nmol/l, 250nmol/l, 375nmol/l und 600nmol/l ATP). Weiterhin wurden von beiden Zelllinien MX1 und S117 Verdünnungsreihen in Kulturmedium (leer, 5000, 10000 und 20000 Zellen/Probe) angefertigt. Die Zellproben wurden anschließend noch für vier Stunden im Brutschrank inkubiert, da nach dieser Zeitspanne einerseits der Zellstoffwechsel durch die Aussaat nicht mehr wesentlich beeinträchtigt zu sein schien (s. 3.2.1) und andererseits noch keine grobe Verfälschung durch Zellproliferation zu erwarten war.

Mit je zwei verschiedenen Extraktionsverfahren¹ wurden dann die Eichreihen und die Zellproben - drei Proben je Verdünnungsstufe - behandelt und anschließend gemessen. Da sowohl die ATP-Konzentration der Eichreihen als auch die Zellzahl der Proben bekannt war, konnte die durchschnittliche intrazelluläre ATP-Menge berechnet werden, aus dem mittleren Zellvolumen der untersuchten Zellen konnte dann auch die intrazelluläre ATP-Konzentration, ausgedrückt in mmol/l, berechnet werden.

Zur Überprüfung des Einflusses der Testreagenzien auf die intrazelluläre ATP-Konzentration wurde allerdings auf die Berechnung absoluter Werte verzichtet, vielmehr wurden die Messwerte als Prozentwerte bezogen auf eine unbehandelte Kontrolle ausgedrückt.

¹Um systematische Fehler klein zu halten, sollten die Verfahren möglichst unterschiedlich sein, es kamen daher die Verfahren nach 2.4.1 und 2.4.2 zur Anwendung.

2.6 ATP-Extraktion in vivo

Die Tierversuche sind unter der Tierversuchsnummer X 330 a-72241.122-4(33-5/97) genehmigt worden.

2.6.1 Versuchstiere

Bei den Versuchstieren handelte es sich um weibliche, fünf bis sechs Wochen alte, athymische nu/nu-Mäuse (Zentralinstitut für Versuchstierzucht, Hannover, Deutschland). Die Tiere wurden bei $23^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ und 40-60% relativer Luftfeuchte in $25 \times 45 \text{ cm}$ großen Plastikschalenkäfigen gehalten. Pelletiertes Futter (Altromin 1434, Fa. Altromin, Lage, Deutschland) und Trinkwasser waren für die Mäuse frei zugänglich.

2.6.2 Narkose

Die Narkose wurde mit einer intraperitoneal applizierten Mischung aus einem Teil 2%iger Ketaminlösung (Rompun[®]), einem Teil 50mg/ml Pentobarbital (hergestellt in der Apotheke der Medizinischen Universität zu Lübeck) und acht Teilen 0,9%iger NaCl-Lösung in einer Anfangsdosierung von 16ml/kg Körpergewicht durchgeführt. Bei nachlassender Wirkung wurden jeweils 0,15ml des Narkosegemisches nachinjiziert.

2.6.3 Tumor und Transplantation

Für die in-vivo-Untersuchungen kam der in 2.1 beschriebene MX1-Tumor zur Anwendung. Zunächst wurde der Tumor über zwei bis drei fortlaufende Passagen unter die Haut der Nackenregion einer Maus transplantiert. Nach Erreichen eines Tumorumfanges von ca. 4000 bis 5000mm³ wurde die Maus getötet und der Tumor steril entnommen. Bindegewebe und nekrotisches Material wurde entfernt, der Tumor geteilt und subkutan auf beide Hinterpfoten der Tiere implantiert [4], indem die ca. 1mm messenden Tumorstücke durch einen Hautschnitt am Hinterbein oberhalb der

Pfote unter die Haut geschoben wurden. Der Wundverschluss erfolgte mittels Pflasterstreifen. Nach ca. 18-21 Tagen Wachstum hatten die Tumoren eine Größe von sechs bis neun Millimetern erreicht.

2.6.4 Entnahme von Tumor- und Muskelgewebe

Zur ATP-Messung wurde die Temperatur der tumortragenden Extremität auf 37°C eingestellt. Von dem an der narkotisierten Maus mit einer in flüssigem Stickstoff auf -196°C gekühlten Kryozange entnommenen Tumor- bzw. Muskelgewebe wurden 5-10mg in 500 μ l eisgekühlte 3M Perchlorsäure eingewogen und vermischt. Nach Zugabe von 775 μ l 2M KOH zur Neutralisation wurden die Proben 1min bei 13000U/min zentrifugiert. Der Überstand wurde anschließend mit aqua dest. verdünnt (Tumor 1:500, Muskel 1:2500). Jeweils 300 μ l dieser Lösung wurden dann wie in 2.3.2 beschrieben im Luminometer gemessen.

2.7 Gewebe-ATP-Spiegel in vivo

Da sowohl die Menge des eingewogenen Gewebes als auch die einzelnen Verdünnungsschritte bekannt waren, konnte der Gewebe-ATP-Spiegel berechnet werden. Um auszuschließen, dass die Messwerte durch die Extraktionsprozedur wesentlich beeinflusst wurden, wurde eine standardisierte ATP-Lösung dem gleichen Verfahren unterzogen, hierbei zeigten sich keine wesentlichen Verfälschungen.

2.8 Statistik

Alle Versuche zur ATP-Messung wurden im Dreifachansatz jeweils sechs Male durchgeführt. Als Messwert wurde jeweils das arithmetische Mittel eines Datentripels gewertet, wenn der Variationskoeffizient (VK) der drei Einzelmesswerte unter 15% lag. Betrug der VK über 15%, so wurde ein Einzelwert nicht berücksichtigt, sofern der VK der beiden übrigen Werte unter 10% lag.

Bei den Versuchen, bei denen eine Substanz gegen eine unbehandelte Kontrollgruppe

getestet wurde, kam als statistisches Testverfahren der Student-t-Test für verbundene Stichproben zur Anwendung, wobei die Stichproben die sechs wie im ersten Absatz beschrieben ermittelten RLU-Werte der Kontroll- und Verumgruppe waren. Die Nullhypothese H_0 war hierbei, dass beide Stichproben aus der gleichen Grundgesamtheit stammten, das heißt, ihre Mittelwerte gleich waren. Entsprechend besagte die Alternativhypothese H_a , dass sich die Mittelwerte beider Stichproben unterschieden (zweiseitiger Test). Das Signifikanzniveau wurde mit $\alpha = 0,005$ festgelegt. Durch die Anwendung der Testvariante für verbundene Stichproben konnten sämtliche Messpunkte einer Versuchsanordnung gemeinsam verglichen werden.

Bei den übrigen Versuchen (Vergleich der Testsubstanzen mit und ohne Aminooxoacetat) kam der t-Test für unverbundene Stichproben zur Anwendung, Stichproben waren hierbei die bereits auf die Kontrollgruppen bezogenen relativen ATP-Werte unter Behandlung mit den Substanzen alleine bzw. in Kombination mit Aminooxoacetat, das Signifikanzniveau wurde wiederum mit $\alpha = 0,005$ festgelegt.

3

Ergebnisse

3.1 Vergleich der ex-vivo-Extraktionsverfahren

3.1.1 Praktische Durchführbarkeit

Alle drei Verfahren sind einfach und schnell durchzuführen, insbesondere ist keine weitere Probenvorbereitung, welche die Energiestoffwechsellage der Zellen beeinflussen könnte, erforderlich. Sämtliche Reagenzien sind problemlos zu handhaben und auch in Lösung stabil. Nachteilig bei dem Trispufferverfahren (s. 2.4.1) ist, dass das erforderliche Volumen den Einsatz auf 96-Well-Mikrotiterplatten nicht zulässt und eine längere Inkubation von Zellen in Eppendorf-Cups keine gleichmäßigen Ergebnisse liefert. Vorteilhaft bei diesem Verfahren ist allerdings die besonders einfache Probenaufbereitung und damit eine geringere Wahrscheinlichkeit von Pipettierungenauigkeiten und ähnlichen Fehlerquellen, weshalb die meisten Vorversuche, die noch keine Kultur in Mikrotiterplatten erforderten, mit diesem Verfahren durchgeführt wurden.

3.1.2 Reproduzierbarkeit der Messwerte

Zur Einschätzung der Reliabilität der Verfahren wurden drei Zellsuspensionen mit unterschiedlicher Zelldichte angesetzt (nur Medium, 10^5 Zellen/ml und $2 \cdot 10^5$ Zellen/ml). Von jeder Suspension wurden mit jedem Verfahren drei Proben angefertigt

und gemessen. Von der Suspension mit 10^5 Zellen/ml wurden außerdem mit jedem Verfahren drei weitere Proben angesetzt und für vier Stunden bei 4°C gelagert.

Tabelle 1: *Variationskoeffizienten von je drei Messungen identischer Proben, die Proben mit 10^5 Zellen/ml wurden sofort nach der Extraktion und nach vierstündiger Lagerung bei 4°C gemessen. Zellaussaat in 1,5ml-Eppendorf-Cups, die Inkubationszeit zwischen Aussaat und Extraktion betrug vier Stunden.*

	Trispuffer	TCA	PCA
nur Medium	15,1%	11,6%	6,5%
10^5 Zellen/ml sofort	10,2%	3,2%	3,1%
10^5 Zellen/ml nach 4h	6,1%	3,5%	3,3%
$2 \cdot 10^5$ Zellen/ml	3,7%	2,2%	4,1%

Wie aus Tabelle 1 ersichtlich, sind die Säureverfahren zumindest nicht unverlässlicher als das technisch einfachere Verfahren mit siedendem Puffer, die oben angesprochenen Aspekte der Pipettierungenauigkeiten spielen also keine wesentliche Rolle.

3.1.3 Störempfindlichkeit

Im Ablauf aller drei Verfahren existiert ein Schritt, der möglicherweise nicht bei allen Proben, insbesondere, wenn gleichzeitig viele Proben aufzubereiten sind, exakt reproduziert werden kann; dies ist bei den Säureverfahren der zeitliche Abstand zwischen Zugabe der Säure und der Neutralisationslösung, bei dem Pufferverfahren die Zeit im Wasserbad bei 95°C . Um zu untersuchen, inwieweit Variationen dieses zeitlichen Ablaufs die Ergebnisse beeinflussen, wurden für jedes Verfahren drei identische Proben ($100\mu\text{l}$ Zellsuspension mit einer Dichte von 10^5 Zellen/ml in 1,5ml Eppendorf-Cups) exakt nach Vorschrift aufbereitet. Bei je drei weiteren identischen Proben wurde die Einwirkungs- bzw. Erhitzungsdauer um vier Minuten verlängert. Alle Proben wurden gleichzeitig mit derselben Luciferaselösung gemessen. Abbildung 1 zeigt die Ergebnisse, die Unterschiede liegen in der Größenordnung der statistischen Variationskoeffizienten, so dass gröbere Verfälschungen durch kleine Ungenauigkeiten im zeitlichen Ablauf nicht zu erwarten sind.

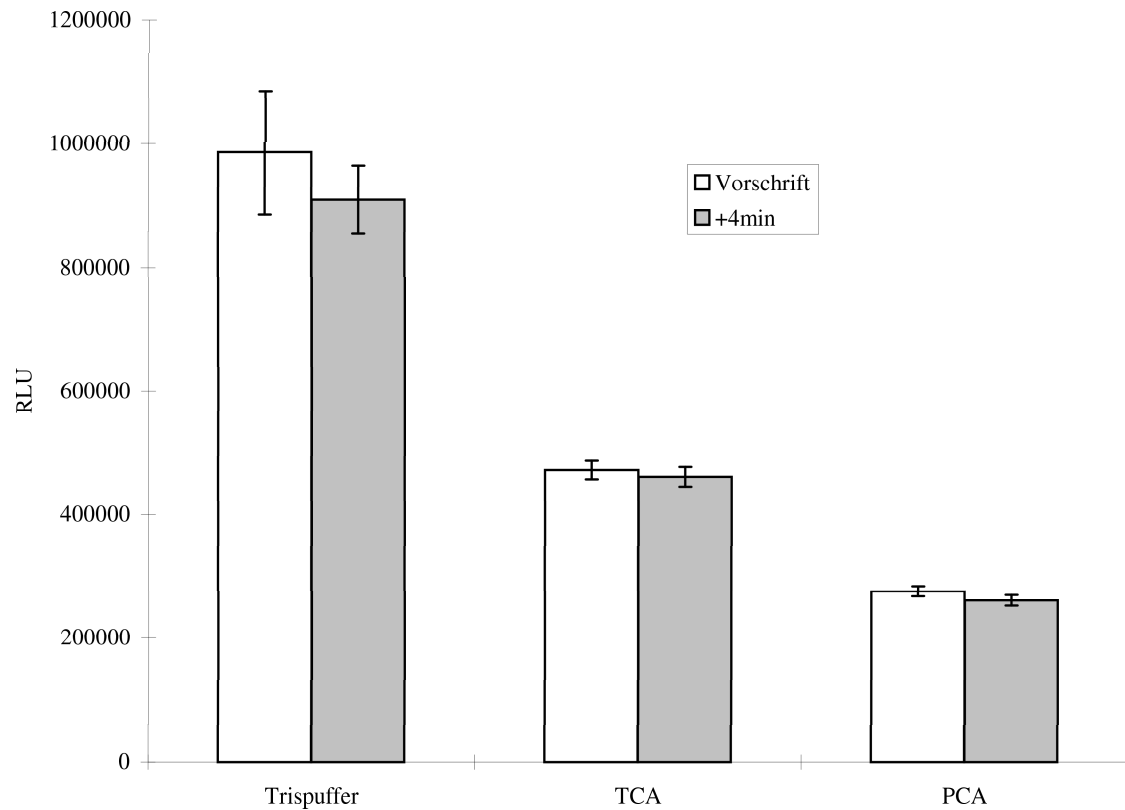


Abbildung 1: Messwerte von identischen Proben (MX1, 100 μ l Suspension, 10⁴ Zellen/Cup) bei nach Vorschrift erfolgter Aufbereitung und bei um 4min verlängerter Einwirkungs- bzw. Erhitzungsdauer. Dargestellt sind Mittelwerte und Standardabweichungen, n=3.

3.1.4 Stabilität der Extrakte

Eine der wesentlichen Forderungen aus 2.4 ist (4): die vollständige und irreversible Inaktivierung aller den ATP-Haushalt beeinflussenden Stoffwechselprozesse. Zu Klärung der Frage, inwieweit dies durch die untersuchten Verfahren erreicht wird, wurden je drei Proben verschiedener Zelldichte (nur Medium, 10⁵ und 2*10⁵ Zellen/ml) mit jedem der drei Verfahren aufbereitet. Von jeder Probe wurden 300 μ l sofort gemessen und 300 μ l für vier Stunden, dies entspricht dem Doppelten der bei den eigentlichen Versuchen notwendigen Lagerungsdauer, auf Eis gelagert und anschließend gemessen. Zum Ausgleich der durch die unterschiedlichen Luciferaselösungen entstehenden Differenzen wurden die Werte der Messung nach vier Stunden

mit einem aus den jeweils mitgeführten Eichreihen (s. 2.3.2) ermittelten Faktor $k = X_{sofort}/X_{4h}$ multipliziert.

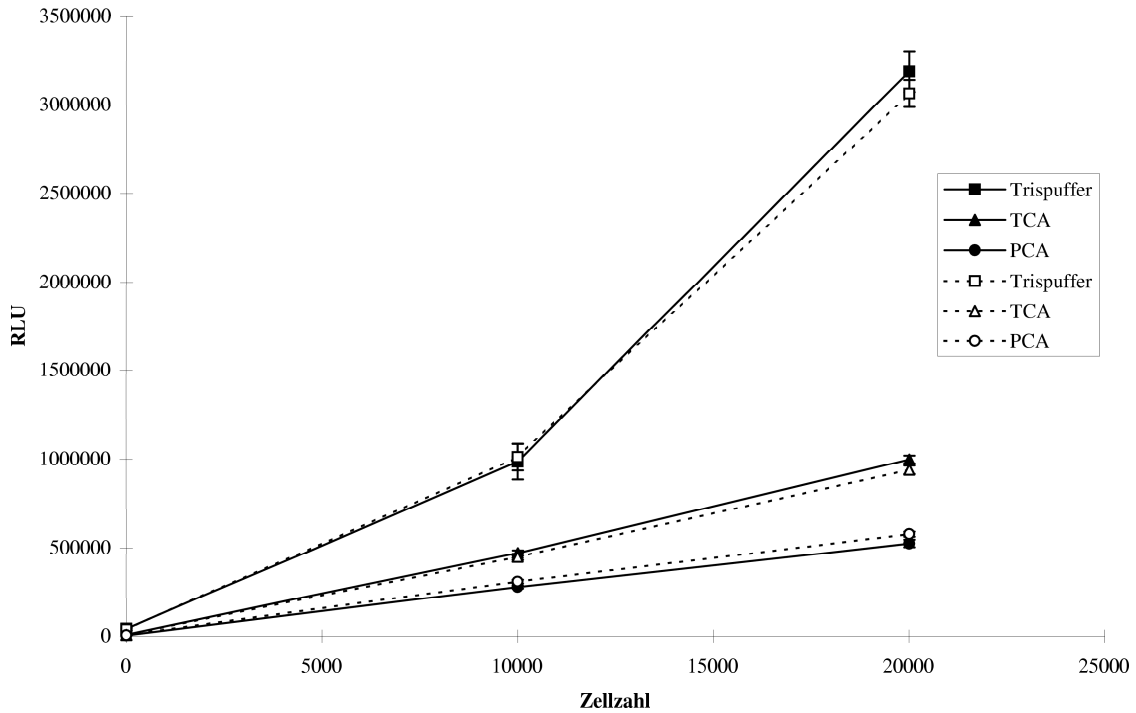


Abbildung 2: Messwerte bei Messung unmittelbar nach der ATP-Extraktion (durchgezogene Graphen) und nach vierstündiger Lagerung der Proben auf Eis (gestrichelt). Letztere Werte multipliziert mit einem aus den mitgeführten Eichreihen ermittelten Korrekturfaktor $k = X_{sofort}/X_{4h}$. Dargestellt sind die Mittelwerte und Standardabweichungen aus drei Proben je eingesetzter Zellzahl.

Die Ergebnisse sind in Abbildung 2 dargestellt, die Lagerung übt keinen Einfluss auf die Messwerte aus, so dass davon auszugehen ist, dass bei allen drei Verfahren eine vollständige und zumindest für vier Stunden irreversible Inaktivierung der den ATP-Haushalt beeinflussenden Stoffwechselprozesse erfolgt.

3.1.5 Empfindlichkeit und Proportionalität

Aus Abbildung 2 wird aber auch ersichtlich, dass das Pufferverfahren zwar die höchsten RLU-Werte je eingesetzter ATP-Konzentration liefert, gleichzeitig jedoch offenbar nicht zuverlässig proportionale Werte. Auch wiederholte Messungen zeigten hier das gleiche Bild.

3.1.6 Wahl des Verfahrens

Alle drei hier untersuchten Verfahren erfüllen prinzipiell die Anforderungen aus 2.3.2, sie sind außerdem in Bezug auf unvermeidliche kleinere zeitliche Ungenauigkeiten unempfindlich. Das Pufferverfahren zeichnet sich durch seine Einfachheit und hohe Sensitivität aus, erwies sich aber in der weiteren Versuchsplanung durch die erforderlichen Volumina als deutlich weniger geeignet. Weiterhin liefert diese Methode trotz der geringeren Anzahl an erforderlichen Verarbeitungsschritten etwas ungenauere Ergebnisse.

Die beiden Säureverfahren liefern zuverlässige Ergebnisse bei für den vorgesehenen Einsatz durchaus ausreichender Sensitivität, und die Reagenzienvolumina sind so niedrig, dass die entscheidenden Schritte der Proteindenaturierung und Neutralisation direkt in den eingesetzten 96-Well-Mikrotiterplatten durchgeführt werden können. Die Trichloressigsäure bietet hierbei durch höhere Sensitivität und geringere erforderliche Menge an Neutralisationslösung Vorteile gegenüber der Perchlorsäure. Auch in der Literatur wird diese Methode von einem Autor als Referenzverfahren benannt [59]. Die ATP-Extraktion wurde also bei allen Versuchen, die in die endgültige Auswertung eingehen sollten, mit 10% Trichloressigsäure durchgeführt.

3.2 ATP-Spiegel in vivo und ex vivo

3.2.1 Beeinflussung durch Aussaat in der Zellkultur

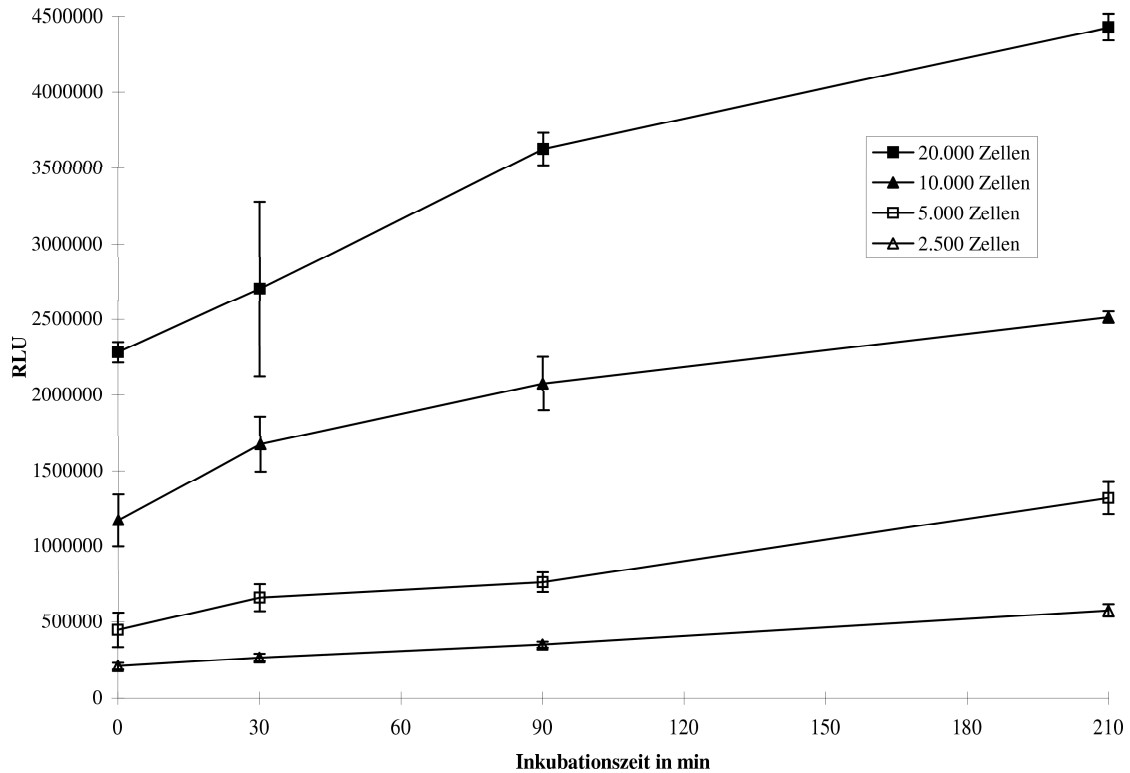


Abbildung 3: RLU-Werte unmittelbar nach Aussaat der MX1-Zellen sowie nach 30, 90 und 210 min Inkubation im Brutschrank. Dargestellt sind Mittelwerte und Standardabweichungen aus drei unabhängigen Versuchen.

Die Prozedur des Umsetzens und Aussäens der Zellen mit allen erforderlichen Schritten ließ eine Beeinflussung des Zellstoffwechsels erwarten. Um deren Ausmaß zu untersuchen und zu bestimmen, nach welcher Zeit sich der Zellstoffwechsel erholt hat, wurden die ATP-Spiegel in verschiedenen Zeitabständen nach der Aussaat mit dem Verfahren nach 2.4.1 gemessen. Da es hierbei nur auf den zeitlichen Verlauf und nicht auf die absoluten Konzentrationen ankam, wurde auf eine Umrechnung der RLU-Werte in ATP-Konzentrationen verzichtet.

Hier zeigte sich auch nach über drei Stunden ein Anstieg der ATP-Spiegel, auf der anderen Seite ist ein Anstieg der ATP-Spiegel auch durch die Zellproliferation zu

erwarten. In anderen in unserem Labor durchgeführten Untersuchungen [6] hatte sich eine 24stündige Inkubation im Brutschrank zwischen Aussaat der Zellen und Beginn der Messungen als praktikable Lösung erwiesen, so dass dies für die vorliegende Untersuchung übernommen wurde.

3.2.2 Intrazelluläre ATP-Konzentration in der Zellkultur

Bei der Bestimmung der intrazellulären ATP-Konzentration in den kultivierten Zellen nach 2.5 fanden sich keine wesentlichen Unterschiede im Vergleich der beiden Extraktionsverfahren: Die intrazelluläre ATP-Konzentration bei MX1- und S117-Zellen lag nach Tabelle 2 in der Kultur unter optimalen Umgebungsbedingungen in der Größenordnung zwischen 6 und 10mmol/l.

Tabelle 2: Intrazellulärer ATP-Gehalt ATP_{cell} in fmol und -Konzentration $cATP$ in mmol/l bei MX1- und S117-Zellen. Angegeben sind Mittelwerte und Standardabweichungen von drei unabhängigen Messungen mit verschiedenen Zellzahlen (5000, 10000 und 20000 Zellen), jeweils im Dreifachansatz.

Extraktions- verfahren	MX1 n=3				S117 n=3			
	ATP_{cell} [fmol]		$cATP$ [mmol/l]		ATP_{cell} [fmol]		$cATP$ [mmol/l]	
TCA	7,38	±0,28	6,15	±0,23	31,85	±2,51	6,37	±0,50
Tris	11,76	±0,75	9,80	±0,62	45,90	±10,64	9,18	±2,13

3.2.3 ATP-Gewebekonzentration im Tumorexograft

Bei den Messungen im MX1-Tumorexograft zeigte sich, dass im vitalen Tumorgewebe ein niedrigerer ATP-Spiegel nachzuweisen ist, allerdings in ähnlicher Größenordnung wie in den isolierten und kultivierten Tumorzellen, so dass eine Vergleichbarkeit gegeben ist. Bei den in-vivo-Messungen handelt es sich nicht um intrazelluläre ATP-Konzentrationen, sondern methodenbedingt vielmehr um Gewebekonzentrationen, bezogen auf die Proteinmasse. Hier sind also auch avitales Gewebe sowie Bindegewebe und Blutgefäße mit erfasst. Deutlich wird jedoch die bessere Energieausstattung von Muskelgewebe gegenüber dem Tumorgewebe.

Tabelle 3: ATP-Gewebekonzentration in $\mu\text{mol/g}$ Protein im vom selben Blutgefäß versorgten MX1-Tumorenograft und Muskelgewebe an der Nacktmaus unter physiologischen Bedingungen (Wasserbad 37°C) im zeitlichen Verlauf über 1,5 Stunden. Angegeben sind Mittelwerte und Standardabweichungen von drei unabhängigen Versuchen.

Zeit in min	MX1-Tumor n=3 [$\mu\text{mol/g}$]		Muskel n=3 [$\mu\text{mol/g}$]	
5	1,78	$\pm 1,21$	4,94	$\pm 1,44$
10	1,40	$\pm 1,36$	4,07	$\pm 0,39$
15	1,95	$\pm 1,30$	5,04	$\pm 1,28$
20	1,46	$\pm 1,23$	5,16	$\pm 1,61$
40	1,27	$\pm 0,81$	5,48	$\pm 2,46$
60	1,15	$\pm 1,24$	4,31	$\pm 1,47$
90	1,01	$\pm 1,38$	4,24	$\pm 0,39$

3.3 ATP-Spiegel unter Behandlung

3.3.1 Chloracetaldehyd

Unter Behandlung mit Chloracetaldehyd bei erhaltener anaerober Glykolyse zeigte sich bei beiden Zelllinien in den ersten 60min kein signifikanter Abfall des ATP im Vergleich zur unbehandelten Kontrollprobe (Abbildungen 4 und 5). Lediglich in einer Dosierung von $500\mu\text{mol/l}$ findet sich sowohl bei den MX1-Zellen als auch bei den S117-Zellen eine deutliche Reduktion des ATP bei der Messung nach 120 Minuten Inkubation ($p < 0,005$).

3.3.2 Fluoracetat

Auch unter Inkubation mit $500\mu\text{mol/l}$ Fluoracetat lässt sich ohne Blockade des anaeroben Stoffwechselweges ein signifikanter Einfluss auf den ATP-Spiegel weder bei MX1- noch bei S117-Zellen nachweisen (Abbildungen 4 und 5).

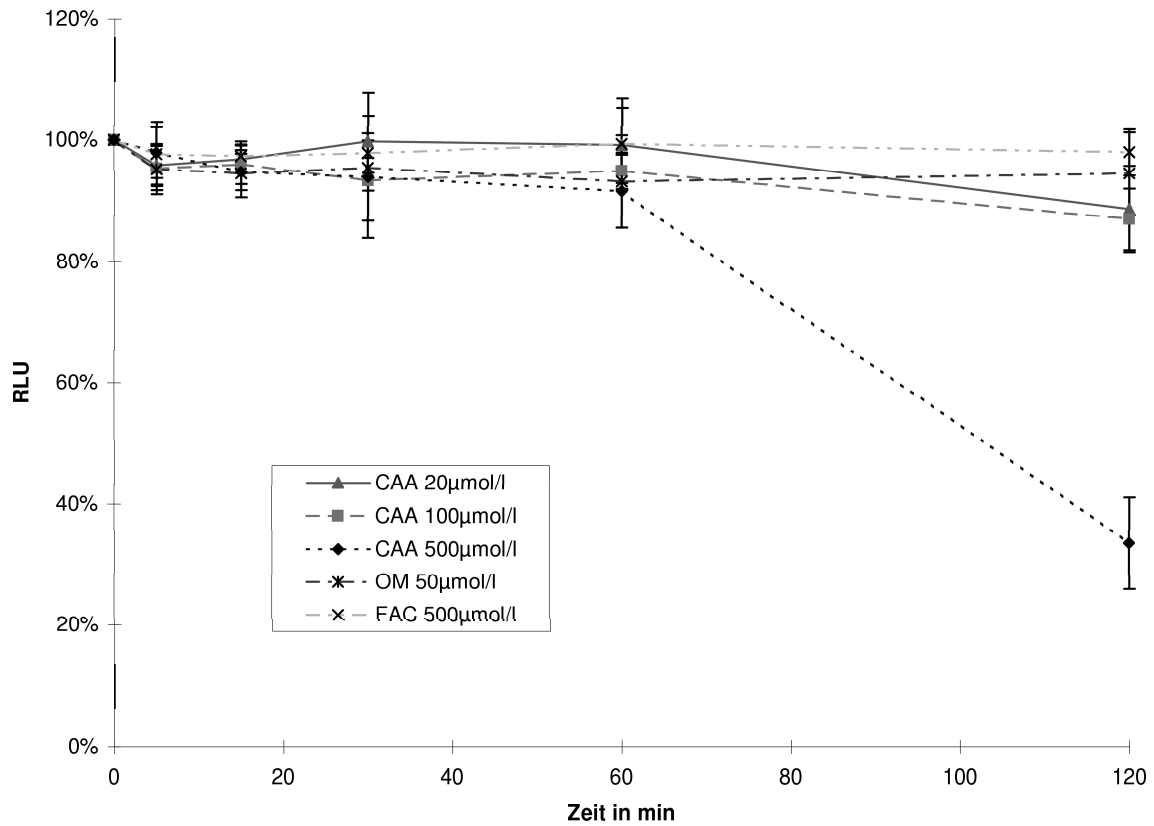


Abbildung 4: ATP-Spiegel von MX1-Zellen unter Inkubation mit Chloroacetaldehyd, Fluoroacetat und Oligomycin relativ zu einer unbehandelten Kontrollprobe. Dargestellt sind Mittelwerte und Standardabweichungen aus jeweils sechs Versuchen.

3.3.3 Oligomycin

Das gleiche Bild zeigt sich bei Behandlung mit 50 µmol/l Oligomycin, auch hier bleiben die ATP-Spiegel bei beiden Zelllinien über die gesamte Messdauer von 120 Minuten unverändert.

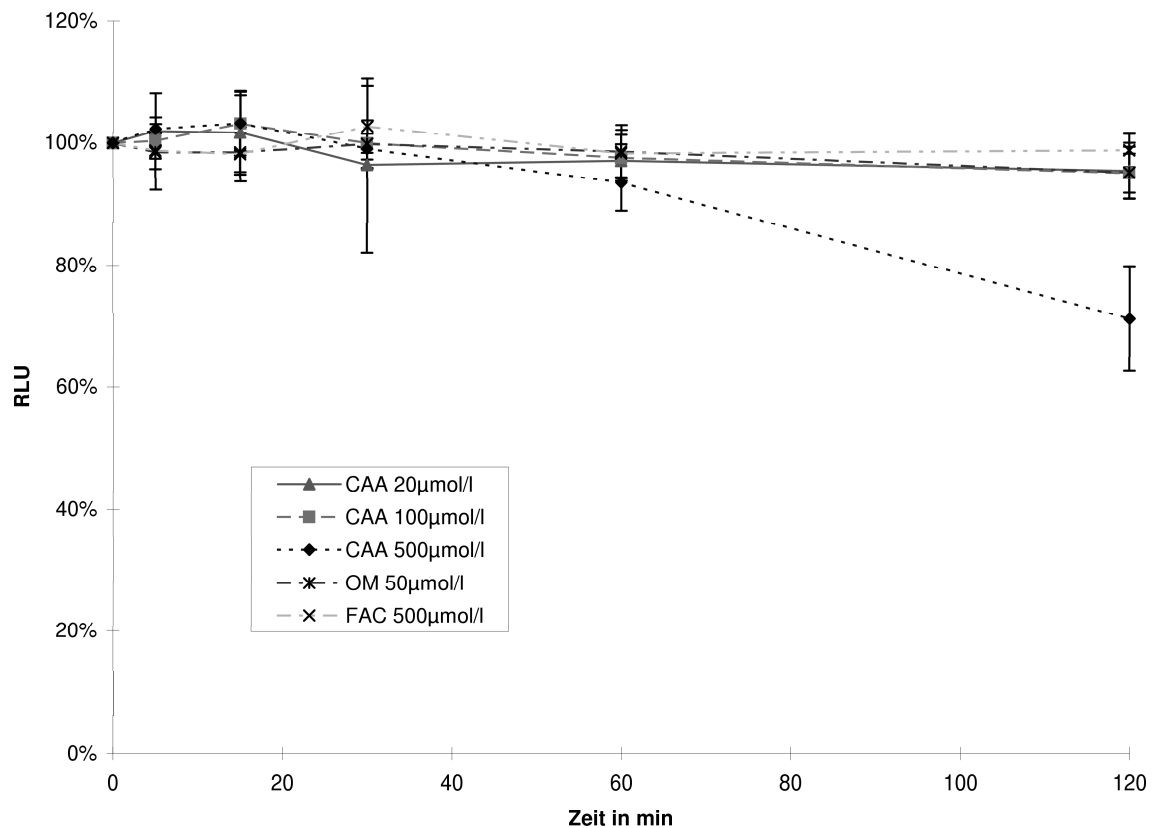


Abbildung 5: ATP-Spiegel von S117-Zellen unter Inkubation mit Chloroacetaldehyd, Fluoroacetat und Oligomycin relativ zu einer unbehandelten Kontrollprobe. Dargestellt sind Mittelwerte und Standardabweichungen aus jeweils sechs Versuchen.

3.4 ATP-Spiegel unter Behandlung bei blockierter anaerober Glykolyse

3.4.1 Aminooxoacetat

Aus den Abbildungen 6 und 7 wird deutlich, dass allein die Blockade des anaeroben Stoffwechselweges ohne zusätzliche Hemmung der Atmungskette einen signifikanten ($p < 0,005$) Abfall des ATP-Spiegels schon innerhalb der ersten fünf Minuten nach Zugabe des Aminooxoacetates bewirkt. Bei den S117-Zellen ist diese Reduktion etwas weniger ausgeprägt als bei den Zellen der MX1-Linie, aber auch hier liegen die ATP Spiegel nach zwei Stunden Inkubation nur noch bei 42% der Kontrollprobe (MX1 28%).

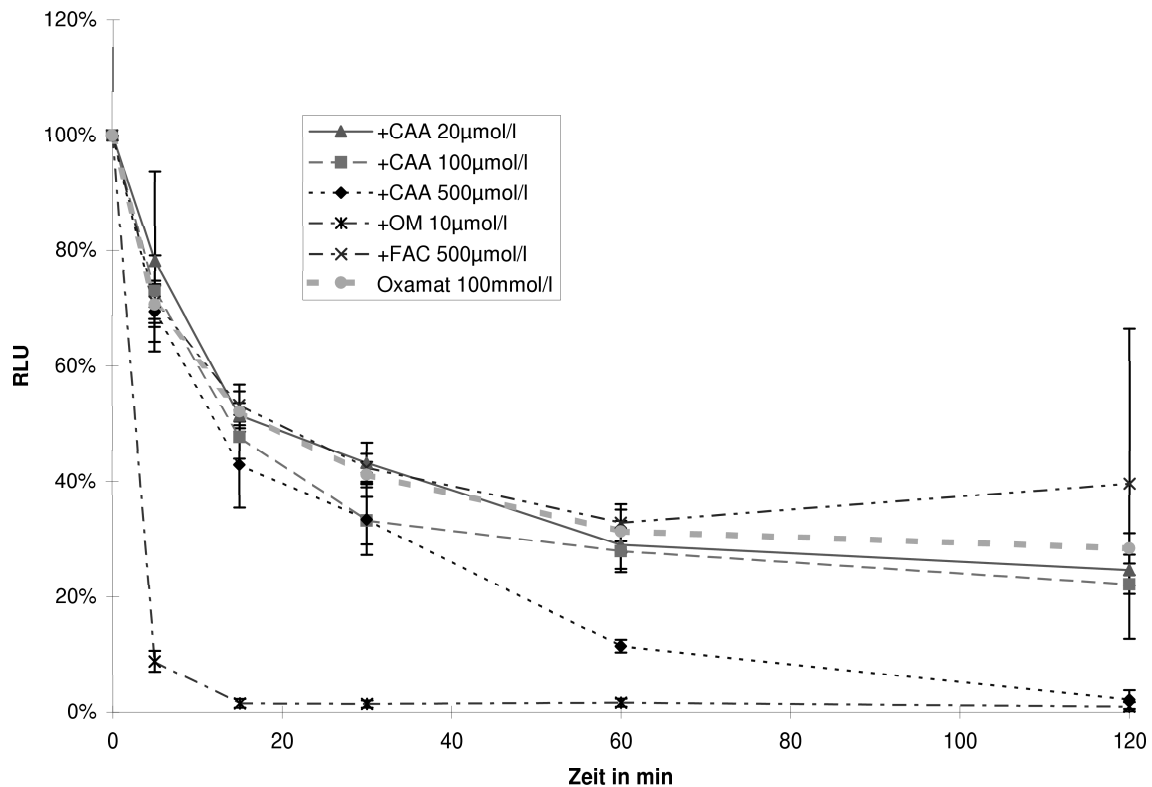


Abbildung 6: ATP-Spiegel von MX1-Zellen unter Inkubation mit Chloracetaldehyd, Fluoracetat und Oligomycin in Kombination mit 100mmol/l Aminooxoacetat zur Blockade der anaeroben Glykolyse relativ zu einer unbehandelten Kontrollprobe. Zum Vergleich werden die Messwerte unter Inkubation mit 100mmol/l Aminooxoacetat ohne Zugabe der übrigen Reagenzien mit gezeigt. Dargestellt sind Mittelwerte und Standardabweichungen aus jeweils sechs Versuchen.

3.4.2 Chloracetaldehyd und Aminooxoacetat

Unter Zugabe von Chloracetaldehyd in drei unterschiedlichen Konzentrationen (20μmol/l, 100μmol/l und 500μmol/l) ergab sich ein differenziertes Bild: Bei den Zellen der MX1-Linie ließ sich bei Inkubation mit 100μM Chloracetaldehyd nach 30min und 120min ein signifikant niedrigerer ATP-Spiegel als bei den lediglich mit Aminooxoacetat behandelten Zellen nachweisen, bei 500μM Chloracetaldehyd deutlich nach 60min. Unter Behandlung mit 20μmol/l Chloracetaldehyd trat allerdings keine statistisch signifikante Veränderung des ATP-Spiegels auf (Abbildung 6).

Die S117-Zellen zeigten hier eine höhere Empfindlichkeit. Schon bei Inkubation mit 20μmol/l CAA ist bei 30min eine signifikante ($p < 0,005$) ATP-Reduktion ge-

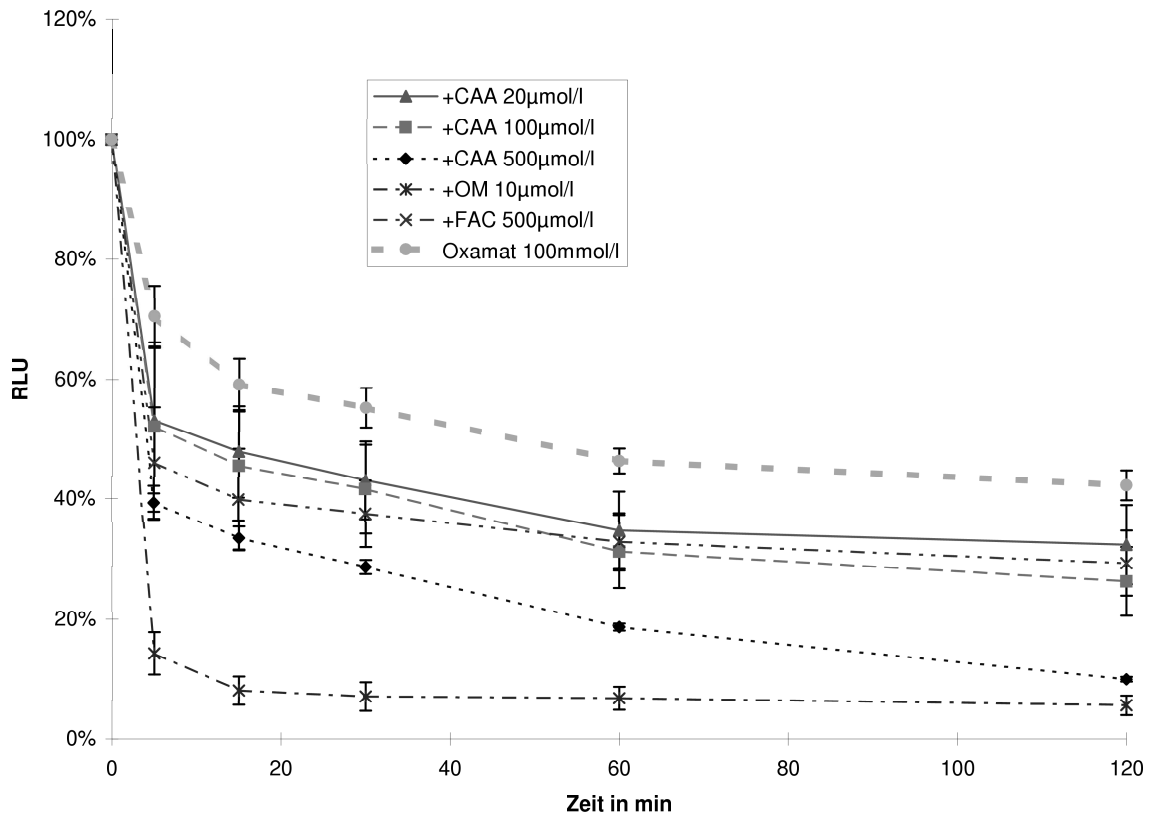


Abbildung 7: ATP-Spiegel von S117-Zellen unter Inkubation mit Chloracetaldehyd, Fluoracetat und Oligomycin in Kombination mit 100mmol/l Aminooxoacetat zur Blockade der anaeroben Glykolyse relativ zu einer unbehandelten Kontrollprobe. Zum Vergleich werden die Messwerte unter Inkubation mit 100mmol/l Aminooxoacetat ohne Zugabe der übrigen Reagenzien mit gezeigt. Dargestellt sind Mittelwerte und Standardabweichungen aus jeweils sechs Versuchen.

genüber den nur mit Aminooxoacetat behandelten Zellen sichtbar, die 60min- und 120min-Werte sind mit $p=0,006$ bzw. $p=0,012$ nicht mehr signifikant niedriger. Unter $100\mu\text{mol/l}$ CAA zeigt sich dann aber ein deutlicher Abfall des ATP-Spiegels ab der 30. Minute, unter $500\mu\text{mol/l}$ CAA schon ab der 5. Minute (Abbildung 7).

3.4.3 Fluoracetat und Aminooxoacetat

Auch bei Inkubation mit $500\mu\text{mol/l}$ Fluoracetat zeigte sich ein Unterschied zwischen den beiden Zelllinien. Während sich bei den MX1-Zellen keine weitere ATP-Reduktion im Vergleich zu den nur mit Aminooxoacetat behandelten Zellen nach-

weisen ließ (Abbildung 6), zeigte sich bei den S117-Zellen ein signifikanter Abfall des ATP-Spiegels von der 5. Minute an (Abbildung 7).

3.4.4 Oligomycin und Aminooxoacetat

Eindeutig ist der Effekt des Oligomycins. Bei gleichzeitiger Blockade des anaeroben Stoffwechselweges mit Aminooxoacetat bricht unter Zugabe von $10\mu\text{mol/l}$ Oligomycin die ATP-Synthese sowohl der MX1- als auch der S117-Zellen nahezu vollständig zusammen (Abbildungen 6, 7). Im Vergleich zur unbehandelten Kontrollprobe findet sich bei den Zellen der MX1-Linie noch ein ATP-Spiegel von 1-2% schon nach 15 Minuten Inkubation, die S117-Zellen erhalten sich noch einen ATP-Spiegel von 6-8% in Relation zur unbehandelten Kontrolle.

4

Diskussion

4.1 Wirkmechanismus von Chloracetaldehyd

In der Literatur werden eine Reihe von Hypothesen zur Wirkung von Chloracetaldehyd auf die intrazelluläre Energiegewinnung diskutiert. So konnte bei Untersuchungen an menschlichen Nierentubuli in vitro beobachtet werden, dass die Utilisation von Lactat und die Syntheserate von Glucose unter $500\text{-}5000\mu\text{mol/l}$ Chloracetaldehyd drastisch reduziert wurden, es aber gleichzeitig zu einer Akkumulation von Pyruvat kam [13]. Gleichzeitig fand sich eine Abnahme von Adenosintriphosphat, Coenzym A und Acetyl-CoA. Nach der Hypothese der Autoren kann diese Befundkonstellation durch eine Inhibition sowohl des Pyruvatdehydrogenasekomplexes, der die oxydative Decarboxylierung von Pyruvat zu Acetyl-CoA katalysiert, als auch der Pyruvatcarboxylase, einem durch Acetyl-CoA aktiviertem Enzym der Gluconeogenese erklärt werden.

In einer anderen Untersuchung an Ratten fand sich in vivo kein Einfluss von Chloracetaldehyd auf die Aktivität der Succinatdehydrogenase, allerdings konnte eine Reduktion der Fettsäureoxidation, namentlich des Palmitatstoffwechsels beobachtet werden [69]. Eine Inhibition der intrazellulären Energiegewinnung durch Chloracetaldehyd in Konzentrationen von $200\mu\text{mol/l}$ auf der Ebene der Atmungskette in Form einer reduzierten Aktivität der Succinat-Cytochrom-c-Oxidoreduktase konnte von WOODLAND ET AL. [72] nachgewiesen werden.

Mit der vorliegenden Untersuchung konnte nachgewiesen werden, dass Chloracetaldehyd ex vivo die ATP-Synthese von MX1- und S117-Zellen hemmen kann, allerdings nur in sehr hohen und klinisch nicht relevanten Konzentrationen, wenn gleichzeitig die anaerobe Glykolyse blockiert wird. Gleichzeitig zeigt sich ein deutlicher Abfall des intrazellulären ATP-Gehaltes bei alleiniger Blockade des anaeroben Stoffwechselweges. Da sich diese ATP-Depletion in allen Versuchen bereits nach den ersten fünf Minuten Inkubation nachweisen lässt, ist der in den Abbildungen 4 und 5 ohne Blockade der anaeroben Glykolyse zu ersiehende Abfall des intrazellulären ATP-Gehaltes nach einer Inkubation mit $500\mu\text{mol/l}$ Chloracetaldehyd von mehr als einer Stunde durch das Absterben der Zellen bei dieser Chloracetaldehydkonzentration [6] zu erklären.

Zum Verständnis dieser Ergebnisse trägt die Beobachtung bei, dass Tumoren in der Lage sind, ihre Stoffwechsellage von der Verfügbarkeit der Substrate abhängig zu machen. Insbesondere ist bei einem ausreichendem Glucoseangebot der Syntheseweg der anaeroben Glykolyse von Glucose über Pyruvat zu Lactat in großem Maße steigerbar, der Tricarbonsäurezyklus scheint jedoch sättigbar zu sein [25]. Steht also Glucose als Substrat zur Verfügung, so können die untersuchten Tumorzellen eine Störung der oxydativen Glykolyse durch eine entsprechende Steigerung der anaeroben Glykolyse kompensieren. Erst nach der Blockade dieses Weges, die in der vorliegenden Untersuchung durch den Lactatdehydrogenaseinhibitor Aminooxoacetat erzielt wurde, werden die Effekte von Chloracetaldehyd auf den Adenosintriphosphathaushalt der Zelle sichtbar. SOOD UND O'BRIEN [54] haben in ihrer Untersuchung zur Toxizität von Chloracetaldehyd an Rattenhepatozyten einen ATP-Abfall beobachtet. In ihrer Arbeit wurden die Zellen in Krebs-Henseleit-Puffer kultiviert, den es in einer glucosehaltigen und einer glucosefreien Version gibt. Die Vermutung, dass in dieser Untersuchung glucosefreier Puffer verwendet wurde, liegt nahe, eine Aussage hierüber treffen die Autoren leider nicht. Berücksichtigt man dann ferner die Ergebnisse von DUBOURG ET AL. [13], nach denen auch die Gluconeogenese, zu der ja insbesondere Hepatozyten in der Lage sind, durch Chloracetaldehyd beeinträchtigt wird, löst sich der scheinbare Widerspruch zwischen den eigenen Ergebnissen und denen von SOOD UND O'BRIEN [54] auf.

Zur Beantwortung der Frage nach dem molekularen Mechanismus der beobachteten

Effekte trägt eine genauere Betrachtung der Ergebnisse sowohl der vorliegenden Untersuchung als auch der Literaturergebnisse bei. Eine Inhibition der F_0F_1 -ATPase ist für Oligomycin beschrieben [41]. Eine an HeLa-Zellen durchgeführte Untersuchung des Effektes von Oligomycin auf die intrazellulären ATP-Konzentrationen zeigte eine ATP-Depletion nur bei Kultur in glucosefreiem Medium, in glucosehaltigem Medium war kein Effekt zu beobachten [16]. Dies deckt sich mit den eigenen Beobachtungen.

Für einen Chloracetaldehyd-Wirkmechanismus außerhalb der eigentlichen Atmungskette, zusätzlich zu der von WOODLAND ET AL. [72] beobachteten Hemmung der Succinat-Cytochrom-c-Oxidoreduktase, sprechen die Ergebnisse von DUBOURG ET AL. [13], die allerdings mit sehr hohen Chloracetaldehydkonzentrationen im Bereich von $500\mu\text{mol/l}$ bis $5000\mu\text{mol/l}$ beobachtet wurden. Die dort beobachtete Akkumulation von Pyruvat ist nicht nur über eine Hemmung der Pyruvatcarboxylase und des Pyruvatdehydrogenasekomplexes, sondern ebenso gut über eine "letale Synthese" von Chloracetyl-CoA analog zum Fluoracetatstoffwechsel [7, 49, 62] erklärbar: Chloracetyl-CoA würde mit Oxalacetat zu Chlorcitrat kondensiert, welches dann ebenso wie Fluorcitrat ein Inhibitor der Aconitase wäre und damit den Tricarbonsäurezyklus an der Stelle der Isomerisation von Citrat zu Isocitrat unterbräche. Gleichzeitig wäre die Aktivierung der Pyruvatcarboxylase durch Chloracetyl-CoA an Stelle von Acetyl-CoA beeinträchtigt. Konsekutiv folgte eine Akkumulation von Pyruvat sowie eine verminderte Gluconeogenese und Lactatutilisation.

Zur Absicherung dieser Hypothese sind noch weitere Untersuchungen erforderlich, jedoch werden diese Überlegungen durch die Beobachtung gestützt, dass sich in den vorliegenden Ergebnissen bei blockierter anaerober Glykolyse zwischen den MX1- und S117-Zellen Unterschiede beobachten lassen. So wird die ATP-Synthese von S117-Zellen im Gegensatz zu MX1-Zellen nach Zugabe von Oligomycin noch in geringem Maße aufrechterhalten. Die eingesetzte Konzentration von $10\mu\text{mol/l}$ Oligomycin scheint bei S117-Zellen also keine vollständige Blockade der F_0F_1 -ATPase zu bewirken. Anders sehen die Effekte von Chloracetaldehyd und Fluoracetat aus. Hier ist bei den S117-Zellen eine stärkere Beeinträchtigung der ATP-Synthese zu beobachten, was auf einen parallelen molekularen Mechanismus hindeuten könnte.

4.2 Mögliche klinische Bedeutung

Zu den folgenden Ausführungen ist einschränkend vor auszuschicken, dass die zitierten Studien an verschiedenen Tumoren durchgeführt wurden. Eine Verallgemeinerung ist daher sicher mit der gebotenen Zurückhaltung zu betrachten. Da sich jedoch die an den verschiedenen Tumoren erhobenen Befunde von der grundsätzlichen Aussage her decken, sind Überlegungen zur klinischen Bedeutung der in der vorliegenden Arbeit gewonnenen Ergebnisse möglich¹.

Die in vivo gemessenen ATP-Gewebekonzentrationen im Tumorxenograft (Tabelle 3) liegen in der gleichen Größenordnung wie die ex vivo in der Zellkultur gemessenen Konzentrationen (Tabelle 2). Dies spricht für eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse der ex-vivo-Versuche mit möglichen in-vivo-Wirkungen.

Die nach der Literatur im Plasma von mit Ifosfamid behandelten Patienten gemessenen Chloracetaldehydspiegel² reichen von $10\mu\text{mol/l}$ - $109\mu\text{mol/l}$ [30] über $80\mu\text{mol/l}$ - $100\mu\text{mol/l}$ [22] bis $210\mu\text{mol/l}$ [74], bei hier durchgeführten Untersuchungen bis $15\mu\text{mol/l}$ [6]. Für therapeutisch erzielbare Chloracetaldehydplasmaspiegel sollte also realistischerweise ein Wert zwischen $10\mu\text{mol/l}$ und $100\mu\text{mol/l}$ angenommen werden, auch wenn es Hinweise auf eine hyperkapnievermittelte höhere intrazelluläre Ifosfamidkonzentration bei Prolaktinomen gibt [50].

Eine Reihe von Untersuchungen konnte zeigen, dass in soliden Tumoren vermehrt hypoxische Areale vorkommen [8, 32, 46, 66, 67]. Unmittelbare Folge der Hypoxie ist vor allem eine Absenkung des intrazellulären pH [2, 17, 25], die nicht nur auf einem erhöhten Lactat-Anfall, sondern auch auf einen erhöhten pCO_2 [25] beruht.

In mehreren Studien [3, 15, 63] konnte gezeigt werden, dass Tumorzellen auf Hypoxie auch mittels einer veränderten Genexpression reagieren können. Der komplex veränderte Energiestoffwechsel von Tumoren mit hohem Anteil an hypoxischem und perinekrotischem Gewebe [19, 32] mit einer höheren Abhängigkeit von anaeroben Stoffwechselpfaden [40] bietet für solide Tumoren durch ein schlechteres Ansprechen auf Chemo- oder Radiotherapie [47, 52, 66] Überlebensvorteile [26].

¹Eine verallgemeinernde Computersimulation des Stoffwechsels von Tumoren zeigt ähnliche Resultate [35].

²Einen Überblick über entsprechende Messverfahren gibt die Übersichtsarbeit von KAIJSER ET AL. [31].

Zusammenfassend basiert der Energiestoffwechsel eines erheblichen Anteils von soliden Tumoren also zu einem wesentlichen Teil auf anaeroben Stoffwechselwegen, insbesondere der anaeroben Glykolyse. Die Daten der vorliegenden Arbeit legen den Schluss nahe, dass unter den Bedingungen einer ohnehin auf anaerober Glykolyse basierenden intrazellulären Energiegewinnung die nachgewiesene Hemmung des aeroben Stoffwechselweges durch Chloracetaldehyd bei therapeutisch erzielbaren Plasmakonzentrationen in der zytotoxischen Wirkung des Ifosfamides gegen solide Tumore nur eine untergeordnete Rolle spielt. Im Vordergrund stehen vermutlich die anderen zellschädigenden Wirkungen Alkylierung [33, 55] und Glutathion-Depletion [39, 42, 45, 53, 70]. Glutathion ist in seiner reduzierten Form ein Tripeptid (L-g-Glutamyl-L-Cysteinyl-Glycin), welches eine Thiol- oder Sulfhydryl(-SH)-gruppe enthält, und hat eine wesentliche Funktion im Schutz gegen freie Radikale und andere Oxidantien. Eine Glutathion-Depletion kann zu einer erhöhten Empfindlichkeit gegenüber der Toxizität von Chloracetaldehyd führen [54]. Andere Untersuchungen [9, 27, 51] konnten zeigen, dass die Alkylantienwirkung in rasch proliferierenden normalen Zellen und Tumorzellen durch eine Glutathion-Depletion verstärkt werden kann.

Es zeigt sich in den vorliegenden Ergebnissen jedoch eine Tendenz: die MX1-Zellen reagieren auf die alleinige Blockade der anaeroben Glykolyse mit einem deutlich stärkeren ATP-Abfall als die S117-Zellen, die wiederum empfindlicher auf Chloracetaldehyd und Fluoracetat reagieren. Dies stützt die Hypothese, dass Tumoren, die, wie in diesem Falle die MX1-Zellen, ihren Energiestoffwechsel auf anaerobe ATP-Gewinnung umgestellt haben, von Störungen des Tricarbonsäurezyklus relativ unbeeinträchtigt bleiben. Als Konsequenz könnte in der Therapie anderer, z.B. hämatologischer Tumoren, die möglicherweise eine stärkere Abhängigkeit von der aeroben Energiegewinnung aufweisen, der Effekt einer ATP-Synthesehemmung durch Chloracetaldehyd eventuell an Relevanz gewinnen. Dies sollte Gegenstand weiterer Untersuchungen sein.

Zusammenfassung

Der Ifosfamidmetabolit Chloracetaldehyd wurde für die im Vergleich zu dem Strukturanalogon Cyclophosphamid höhere Nephro- und Neurotoxizität des Ifosfamids verantwortlich gemacht. Untersuchungen der hiesigen Arbeitsgruppe konnten jedoch für Chloracetaldehyd eine eigene zytotoxische Wirkung auf Tumorzellen ex vivo und in vivo nachweisen. Für Chloracetaldehyd, das auch aus der chemischen Industrie bekannt ist, wurden neben einer alkylierenden und Glutathion vermindernden Wirkung auch eine Hemmung der oxydativen Phosphorylierung beschrieben. Es lag also der Gedanke nahe, mit dem Chloracetaldehyd eine Substanz gefunden zu haben, die die bislang chemotherapeutisch nur unzureichend angreifbaren hypoxischen Tumoreareale gezielt schädigen könnte. Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Wirkung von Chloracetaldehyd auf die Adenosintriphosphatsynthese solider Tumoren in der Zellkultur zu untersuchen.

Hierzu wurden zunächst Methoden zur ATP-Extraktion in der Zellkultur verglichen und aus diesen ein eigenes Verfahren entwickelt. Die eigentliche ATP-Messung erfolgte nach dem Biolumineszenzverfahren. Zellen der humanen Mammakarzinom(MX1)- und Sarkom(S117)-Reihe wurden nach Inkubation in der Zellkultur mit Fluoracetat, Oligomycin und Chloracetaldehyd, jeweils mit und ohne Zugabe des Lactatdehydrogenaseinhibitors Aminooxoacetat, versetzt, unmittelbar nach Zugabe der Substanzen begann die Messung der ATP-Spiegel bis zu einem Zeitraum von 120min.

Eine deutliche Senkung des ATP-Spiegels war nur nach Blockade der anaeroben Glykolyse mit Aminooxoacetat zu beobachten. Beide Zellreihen zeigten ein leicht diffe-

rentes Verhalten: während bei den MX1-Zellen die ATP-Synthese über die oxydative Phosphorylierung unter Oligomycin nahezu vollständig sistierte, zeigten die S117-Zellen noch ATP-Spiegel in Höhe von 6-8% des Ausgangswertes. Chloracetaldehyd vermochte jedoch in Konzentrationen von 20 $\mu\text{mol/l}$ den ATP-Spiegel der S117-Zellen signifikant zu senken, bei MX1-Zellen war dieser Effekt erst ab 100 $\mu\text{mol/l}$ Chloracetaldehyd und nicht so ausgeprägt zu beobachten. Die Ergebnisse zum Fluoracetat ähnelten denen zum Chloracetaldehyd.

Ausgehend von der Fragestellung liegt der Schluss nahe, dass Chloracetaldehyd die ATP-Synthese mit einem ähnlichen molekularen Mechanismus wie Fluoracetat durch Einschleusung in den Tricarbonsäurezyklus als Chloracetyl-CoA hemmt. Relevante Auswirkungen auf den intrazellulären ATP-Gehalt unter therapeutisch erzielbaren Chloracetaldehydkonzentrationen lassen sich in den untersuchten Zellreihen jedoch nur bei gleichzeitiger Hemmung der anaeroben Glykolyse beobachten. Da solide Tumoren häufig aufgrund ihrer in wesentlichen Arealen hypoxischen Stoffwechsellage von aerober Energiegewinnung weniger abhängig sind, scheint die klinische Relevanz dieser Chloracetaldehydwirkung in der Ifosamidtherapie der untersuchten soliden Tumoren von untergeordneter Bedeutung zu sein. Inwieweit sich dieser Effekt bei anderen, insbesondere hämatologischen, Tumoren nutzen lässt, sollte Gegenstand weiterer Forschung sein.

Literaturverzeichnis

- [1] Benz C, Keniry M, Goldberg H: Selective toxicity of gossypol against epithelial tumors and its detection by magnetic resonance spectroscopy. *Contraception* 1988 Mar;37(3):221-8
- [2] Bhujwala ZM, Artemov D, Ballesteros P, Cerdan S, Gillies RJ, Solaiyappan M: Combined vascular and extracellular pH imaging of solid tumors. *NMR Biomed* 2002 Apr;15(2):114-9
- [3] Blancher C, Harris AL: The molecular basis of the hypoxia response pathway: tumour hypoxia as a therapy target. *Cancer Metastasis Rev* 1998 Jun;17(2):187-94
- [4] Börner K, Kisro J, Brüggemann SK, Hagenah W, Peters SO, Wagner T: Metabolism of ifosfamide to chloroacetaldehyde contributes to antitumor activity in vivo. *Drug Metab Dispos* 2000 May;28(5):573-6
- [5] Brüggemann SK, Schlenke P, Klich S, Deeken M, Peters SO, Wagner T: Stem cell toxicity of oxazaphosphorine metabolites in comparison to their antileukemic activity. *Biochem Pharmacol* 2002 Apr 1;63(7):1337-41
- [6] Brüggemann SK, Kisro J, Wagner T: Ifosfamide cytotoxicity on human tumor and renal cells: role of chloroacetaldehyde in comparison to 4-hydroxyifosfamide. *Cancer Res* 1997 Jul 1;57(13):2676-80
- [7] Buffa P, Peters RA: The in vivo formation of citrate induced by fluoroacetate and its significance. *J Physiol (Lond)* 1950;110:488-500
- [8] Chapman JD: The detection and measurement of hypoxic cells in solid tumors. *Cancer* 1984 Dec 1;54(11):2441-9

- [9] Chen G, Waxman DJ: Identification of glutathione S-transferase as a determinant of 4-hydroperoxycyclophosphamide resistance in human breast cancer cells. *Biochem Pharmacol* 1995, May 26;49(11):1691-701
- [10] Coyle T, Levante S, Shetler M, Winfield J: In vitro and in vivo cytotoxicity of gossypol against central nervous system tumor cell lines. *J Neurooncol* 1994;19(1):25-35
- [11] De Luca M, McElroy WD: Kinetics of the firefly luciferase catalyzed reactions. *Biochemistry* 1974 Feb 26;13(5):921-5
- [12] Dervieux T, Brenner TL, Hon YY, Zhou Y, Hancock ML, Sandlund JT, Rivera GK, Ribeiro RC, Boyett JM, Pui CH, Relling MV, Evans WE: De novo purine synthesis inhibition and antileukemic effects of mercaptopurine alone or in combination with methotrexate in vivo. *Blood* 2002 Aug 15;100(4):1240-7
- [13] Dubourg L, Michoudet C, Cochat P, Baverel G: Human kidney tubules detoxify chloroacetaldehyde, a presumed nephrotoxic metabolite of ifosfamide. *J Am Soc Nephrol* 2001 Aug;12(8):1615-23
- [14] Dubourg L, Taniere P, Cochat P, Baverel G, Michoudet C: Toxicity of chloroacetaldehyde is similar in adult and pediatric kidney tubules. *Pediatr Nephrol* 2002 Feb;17(2):97-103
- [15] Duffy JP, Eibl G, Reber HA, Hines OJ: Influence of hypoxia and neoangiogenesis on the growth of pancreatic cancer *Mol Cancer* 2003 Jan 22;2(1):12
- [16] Eguchi Y, Shimizu S, Tsujimoto Y: Intracellular ATP levels determine cell death fate by apoptosis or necrosis. *Cancer Res* 1997 May 15;57(10):1835-40
- [17] Evelhoch JL, Sapareto SA, Nussbaum GH, Ackerman JJ: Correlations between ³¹P NMR spectroscopy and ¹⁵O perfusion measurements in the RIF-1 murine tumor in vivo. *Radiat Res* 1986 Apr;106(1):122-31
- [18] Farzaneh F, Habib N, Walden P: Cancer gene therapy: new horizons in the EastInternational Society for Cancer Gene Therapy. *Cancer Immunol Immunother* 2004 Nov;53(11):1052-3

- [19] Freitas I, Bono B, Bertone V, Griffini P, Baronzio GF, Bonandrini L, Gerzeli G: Characterization of the metabolism of perinecrotic cells in solid tumors by enzyme histochemistry. *Anticancer Res* 1996 May-Jun;16(3B):1491-502
- [20] Furlanut M, Franceschi L: Pharmacology of ifosfamide. *Oncology* 2003;65(Suppl 2):2-6
- [21] Girotti S, Ferri E, Cascione ML, Comuzio S, Mazzuca A, Orlandini A, Breccia A: Methodological problems of direct bioluminescent ATP assay in platelets and erythrocytes. *J Biolumin Chemilumin* 1989 Jul;4(1):594-601
- [22] Goren MP, Wright RK, Pratt CB, Pell FE: Dechloroethylation of ifosfamide and neurotoxicity. *Lancet* 1986 Nov 22;2(8517):1219-20
- [23] Hamilton E, Fennell M, Stafford DM: Modification of tumour glucose metabolism for therapeutic benefit. *Acta Oncol* 1995;34(3):429-33
- [24] Hanahan D, Folkman J: Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis. *Cell* 1996 Aug 9;86(3):353-64
- [25] Helmlinger G, Sckell A, Dellian M, Forbes NS, Jain RK: Acid production in glycolysis-impaired tumors provides new insights into tumor metabolism. *Clin Cancer Res* 2002 Apr;8(4):1284-91
- [26] Hockel M, Vaupel P: Biological consequences of tumor hypoxia. *Semin Oncol* 2001 Apr;28(2 Suppl 8):36-41
- [27] Ishikawa M, Takayanagi Y, Sasaki K: Influence of buthionine sulfoximine on the lethality of ifosfamide and ifosfamide-induced urotoxicity in mice. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 1989 Mar;63(3):455-8
- [28] Jakubczak E, Leclerc H: Mesure de l'ATP bacterien par bioluminescence: etude critique des methodes d'extraction. *Ann Biol Clin (Paris)* 1980;38(5):297-304
- [29] Jaroszewski JW, Kaplan O, Cohen JS: Action of gossypol and rhodamine 123 on wild type and multidrug-resistant MCF-7 human breast cancer cells: ³¹P nuclear magnetic resonance and toxicity studies. *Cancer Res* 1990 Nov 1;50(21):6936-43

- [30] Kaijser GP, Beijnen JH, Jeunink EL, Bult A, Keizer HJ, de Kraker J, Underberg WJ: Determination of chloroacetaldehyde, a metabolite of oxazaphosphorine cytostatic drugs, in plasma. *J Chromatogr* 1993 May 5;614(2):253-9
- [31] Kaijser GP, Korst A, Beijnen JH, Bult A, Underberg WJ: The analysis of ifosfamide and its metabolites (review). *Anticancer Res* 1993 Sep-Oct;13(5A):1311-24
- [32] Kallinowski F, Schlenger KH, Runkel S, Kloes M, Stohrer M, Okunieff P, Vaupel P: Blood flow, metabolism, cellular microenvironment, and growth rate of human tumor xenografts. *Cancer Res* 1989 Jul 15;49(14):3759-64
- [33] Kandala JC, Mrema JE, De Angelo A, Daniel FB, Guntaka RV: 2-chloroacetaldehyde and 2-chloroacetal are potent inhibitors of DNA synthesis in animal cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1990;167:457-63
- [34] Koya K, Li Y, Wang H, Ukai T, Tatsuta N, Kawakami M, Shishido, Chen LB: MKT-077, a novel rhodacyanine dye in clinical trials, exhibits anticarcinoma activity in preclinical studies based on selective mitochondrial accumulation. *Cancer Res* 1996 Feb 1;56(3):538-43
- [35] Kraus M, Wolf B: Implications of acidic tumor microenvironment for neoplastic growth and cancer treatment: a computer analysis. *Tumour Biol* 1996;17(3):133-54
- [36] Kurowski V, Cerny T, Kupfer A, Wagner T: Metabolism and pharmacokinetics of oral and intravenous ifosfamide. *J Cancer Res Clin Oncol* 1991;117 Suppl 4:148-53
- [37] Kurowski V, Wagner T: Comparative pharmacokinetics of ifosfamide, 4-hydroxyifosfamide, chloroacetaldehyde, and 2- and 3-dechloroethylifosfamide in patients on fractionated intravenous ifosfamide therapy. *Cancer Chemother Pharmacol* 1993;33(1):36-42
- [38] Lee CY, Moon YS, Yuan JH, Chen AF: Enzyme inactivation and inhibition by gossypol. *Mol Cell Biochem* 1982 Sep 3;47(2):65-70
- [39] Lind MJ, McGown AT, Hadfield JA, Thatcher N, Crowther D, Fox BW: The effect of ifosfamide and its metabolites on intracellular glutathione levels in vitro and in vivo. *Biochem Pharmacol* 1989 Jun 1;38(11):1835-40

- [40] Liu H, Hu YP, Savaraj N, Priebe W, Lampidis TJ: Hypersensitization of tumor cells to glycolytic inhibitors. *Biochemistry* 2001 May 8;40(18):5542-7
- [41] Matsuno-Yagi A, Hatefi Y: Studies on the mechanism of oxidative phosphorylation. Different effects of F₀ inhibitors on unisite and multisite ATP hydrolysis by bovine submitochondrial particles. *J Biol Chem* 1993 Jan 25;268(3):1539-45
- [42] Meier T, Allenbacher A, Mueller E, Multhoff G, Botzler C, Wiesnet M, Issels R: Ifosfamide induced depletion of glutathione in human peripheral blood lymphocytes and protection by mesna. *Anticancer Drugs* 1994 Aug;5(4):403-9
- [43] Mocellin S, Rossi CR, Nitti D: Cancer vaccine development: on the way to break immune tolerance to malignant cells. *Exp Cell Res* 2004 Oct 1;299(2):267-78
- [44] Modica-Napolitano JS, Koya K, Weisberg E, Brunelli BT, Li Y, Chen LB: Selective damage to carcinoma mitochondria by the rhodacyanine MKT-077. *Cancer Res* 1996 Feb 1;56(3):544-50
- [45] Mohrmann M, Ansorge S, Schmich U, Schonfeld B, Brandis M: Toxicity of ifosfamide, cyclophosphamide and their metabolites in renal tubular cells in culture. *Pediatr Nephrol* 1994 Apr;8(2):157-63
- [46] Moore DH, Rouse MB, Massenburg GS, Zeman EM: Description of a spheroid model for the study of radiation and chemotherapy effects on hypoxic tumor cell populations. *Gynecol Oncol* 1992 Oct;47(1):44-7
- [47] Moulder JE, Rockwell S: Tumor hypoxia: its impact on cancer therapy. *Cancer Metastasis Rev* 1987;5(4):313-41
- [48] Neumann HG: Entstehung und Behandlung von Tumoren. In: Forth W, Henschler D, Rummel W [Hrsg.]: *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*; 5., völlig neu bearb. und erw. Aufl. Bibliographisches Institut & F.A. Brockhaus AG, Mannheim; Wien; Zürich 1987:728-34
- [49] Peter G, Wagner T, Hohorst HJ: Studies on 4-hydroperoxycyclophosphamide (NSC-181815): a simple preparation method and its application for the synthesis of a new class of "activated" sulfur-containing cyclophosphamide (NSC-26271) derivatives. *Cancer Treat Rep* 1976 Apr;60(4):429-35

- [50] Rodrigues LM, Robinson SP, McSheehy PM, Stubbs M, Griffiths JR: Enhanced uptake of ifosfamide into GH3 prolactinomas with hypercapnic hyperoxic gases monitored in vivo by (31)P MRS. *Neoplasia* 2002 Nov-Dec;4(6):539-43
- [51] Saito G, Yoshimura S, Iwasaki K, Kuroshima Y, Moriuchi T: Suppression of plasma glutathione peroxidase activity by ifosfamide. *Asia Oceania J Obstet Gynaecol* 1994 Dec;20(4):441-7
- [52] Sartorelli AC: Therapeutic attack of hypoxic cells of solid tumors: presidential address. *Cancer Res* 1988 Feb 15;48(4):775-8
- [53] Sood C, O'Brien PJ: 2-Chloroacetaldehyde-induced cerebral glutathione depletion and neurotoxicity. *Br J Cancer Suppl* 1996 Jul;27:287-93
- [54] Sood C, O'Brien PJ: Molecular mechanisms of chloroacetaldehyde-induced cytotoxicity in isolated rat hepatocytes. *Biochem Pharmacol* 1993 Nov 2;46(9):1621-6
- [55] Spengler SJ, Singer B: Formation of interstrand cross-links in chloroacetaldehyde-treated DNA demonstrated by ethidium bromide fluorescence. *Cancer Res* 1988;48:4804-6
- [56] Springate J, Chan K, Lu H, Davies S, Taub M: Toxicity of ifosfamide and its metabolite chloroacetaldehyde in cultured renal tubule cells. *In Vitro Cell Dev Biol Anim* 1999 Jun;35(6):314-7
- [57] Springate JE: Ifosfamide metabolite chloroacetaldehyde causes renal dysfunction in vivo. *J Appl Toxicol* 1997 Jan-Feb;17(1):75-9
- [58] Stanley PE: Extraction of adenosine triphosphate from microbial and somatic cells. *Methods Enzymol* 1986;133:14-22
- [59] Stanley PE: A review of bioluminescent ATP techniques in rapid microbiology. *J Biolumin Chemilumin* 1989 Jul;4(1):375-80
- [60] Stephens DT, Critchlow LM, Hoskins DD: Mechanism of inhibition by gossypol of glycolysis and motility of monkey spermatozoa in vitro. *J Reprod Fertil* 1983 Nov;69(2):447-52

- [61] Stone AA, Chambers TC: Microtubule inhibitors elicit differential effects on MAP kinase (JNK, ERK, and p38) signaling pathways in human KB-3 carcinoma cells. *Exp Cell Res* 2000 Jan 10;254(1):110-9
- [62] Stryer L: Der Citratzyklus (Kap. 13) In: Stryer L: Biochemie. Dt. Übersetzung Pfeiffer B, Guglielmi J; 4., durchgesehene Auflage, Friedr. Vieweg & Sohn, Braunschweig/Wiesbaden 1987:230-1
- [63] Sun X, Kanwar JR, Leung E, Lehnert K, Wang D, Krissansen GW: Gene transfer of antisense hypoxia inducible factor-1 alpha enhances the therapeutic efficacy of cancer immunotherapy. *Gene Ther* 2001 Apr;8(8):638-45
- [64] Thews O, Kelleher DK, Lecher B, Vaupel P: Blood flow, oxygenation, metabolic and energetic status in different clonal subpopulations of a rat rhabdomyosarcoma. *Int J Oncol* 1998 Aug;13(2):205-11
- [65] Tso WW, Lee CS: Gossypol uncoupling of respiratory chain and oxidative phosphorylation in ejaculated boar spermatozoa. *Contraception* 1982 Jun;25(6):649-55
- [66] Vaupel P, Hockel M: Blood supply, oxygenation status and metabolic micro-milieu of breast cancers: characterization and therapeutic relevance. *Int J Oncol* 2000 Nov;17(5):869-79
- [67] Vaupel P, Kallinowski F, Okunieff P: Blood flow, oxygen and nutrient supply, and metabolic microenvironment of human tumors: a review. *Cancer Res* 1989 Dec 1;49(23):6449-65
- [68] Vaupel P, Muller-Klieser W: Hemodilution in isolated tumor perfusion. *Biorheology* 1984;21(4):521-8
- [69] Visarius TM, Stucki JW, Lauterburg BH: Inhibition and stimulation of long-chain fatty acid oxidation by chloroacetaldehyde and methylene blue in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 1999 May;289(2):820-4
- [70] Wagner T: Ifosfamide clinical pharmacokinetics. *Clin Pharmacokinet* 1994 Jun;26(6):439-56

- [71] Weisberg EL, Koya K, Modica-Napolitano J, Li Y, Chen LB: In vivo administration of MKT-077 causes partial yet reversible impairment of mitochondrial function. *Cancer Res* 1996 Feb 1;56(3):551-5
- [72] Woodland C, Ito S, Granvil CP, Wainer IW, Klein J, Koren G: Evidence of renal metabolism of ifosfamide to nephrotoxic metabolites. *Life Sci* 2000 Nov 24;68(1):109-17
- [73] Wu YW, Chik CL, Knazek RA: An in vitro and in vivo study of antitumor effects of gossypol on human SW-13 adrenocortical carcinoma. *Cancer Res* 1989 Jul 15;49(14):3754-8
- [74] Zamlauski-Tucker MJ, Morris ME, Springate JE: Ifosfamide metabolite chloroacetaldehyde causes Fanconi syndrome in the perfused rat kidney. *Toxicol Appl Pharmacol* 1994 Nov;129(1):170-5

Anhang A

Abkürzungen

- AMP Adenosinmonophosphat
- ATP Adenosintriphosphat
- CAA Chloracetaldehyd
- dest. destillata
- DMSO Dimethylsulfoxid
- FAC Fluoracetat
- IFO Ifosfamid
- KOH Kalilauge
- OM Oligomycin
- Ox. Aminooxoacetat (Oxamat)
- PCA Perchlorsäure
- PP_i Pyrophosphat
- RLU relative light units
- TCA Trichloressigsäure
- VK Variationskoeffizient

Anhang B

Messwerttabellen

B.1 Rohdaten der Messungen zum Vergleich der Extraktionsverfahren

ATP-Extraktionsverfahren im Vergleich

1. Meßwerte (ohne Lagerung)

RLU/[ATP]		35341			
Proben	RLU	RLU-Leer	Mittelwert	Std.Abw.	[ATP]
Leer (Tris)	48388			6231	
Leer(Tris)	37647	entfällt	41193	15,1%	
Leer(Tris)	37544				
1*10E5 A (Tris)	991567	950374		100103	
1*10E5 A (Tris)	949745	908552	985982	10,2%	2,79E-01
1*10E5 A (Tris)	1140214	1099021			
1*10E5 B (Tris)	1013219	972026		55185	
1*10E5 B (Tris)	928993	887800	909322	6,1%	2,57E-01
1*10E5 B (Tris)	909334	868141			
2*10E5 A (Tris)	3359961	3318768		116918	
2*10E5 A (Tris)	3133641	3092448	3188632	3,7%	9,02E-01
2*10E5 A (Tris)	3195874	3154681			
Leer (TCA)	9826			1010	
Leer(TCA)	7956	entfällt	8671	11,6%	
Leer(TCA)	8231				
1*10E5 A (TCA)	475013	466342		15005	
1*10E5 A (TCA)	469977	460306	471810	3,2%	1,34E-01
1*10E5 A (TCA)	497454	488783			
1*10E5 B (TCA)	483241	474570		15968	
1*10E5 B (TCA)	473485	464814	460914	3,5%	1,30E-01
1*10E5 B (TCA)	452028	443357			
2*10E5 A (TCA)	1011752	1003081		21889	
2*10E5 A (TCA)	1025575	1016904	998001	2,2%	2,82E-01
2*10E5 A (TCA)	982690	974019			
Leer (PCA)	4674	281		281	
Leer(PCA)	4178	entfällt	4349	6,5%	
Leer(PCA)	4196				
1*10E5 A (PCA)	290662	286313		8541	
1*10E5 A (PCA)	276701	272352	276490	3,1%	7,82E-00
1*10E5 A (PCA)	275156	270807			
1*10E5 B (PCA)	267884	263535		8637	
1*10E5 B (PCA)	273410	269061	261573	3,3%	7,40E-00
1*10E5 B (PCA)	256473	252124			
2*10E5 A (PCA)	510810	506461		21371	
2*10E5 A (PCA)	552923	548574	525407	4,1%	1,49E-01
2*10E5 A (PCA)	525536	521187			

(nach 4h Lagerung bei 4 °C)

RLU/[ATP]		41532			
Proben	RLU	RLU-Leer	Mittelwert	Std.Abw.	[ATP]
Leer (Tris)	52738			8332	
Leer(Tris)	38192	entfällt	43118	19,3%	
Leer(Tris)	38425				
1*10E5 A (Tris)	1220623	1177505		88696	
1*10E5 A (Tris)	1150962	1107844	1189769	7,5%	2,86E+01
1*10E5 A (Tris)	1327078	1283960			
2*10E5 A (Tris)	3747797	3704679		90161	
2*10E5 A (Tris)	3582623	3539505	3601208	2,5%	8,67E+01
2*10E5 A (Tris)	3602559	3559441			
Leer (TCA)	9790			1532	
Leer(TCA)	7136	entfällt	8021	19,1%	
Leer(TCA)	7136				
1*10E5 A (TCA)	518047	510026		20866	
1*10E5 A (TCA)	530710	522689	527837	4,0%	1,27E+01
1*10E5 A (TCA)	558815	550794			
2*10E5 A (TCA)	1106074	1098053		28195	
2*10E5 A (TCA)	1143725	1135704	1104760	2,6%	2,66E+01
2*10E5 A (TCA)	1088544	1080523			
Leer (PCA)	6676			502	
Leer(PCA)	5750	entfällt	6100	8,2%	
Leer(PCA)	5875				
1*10E5 A (PCA)	358134	352034		13327	
1*10E5 A (PCA)	363157	357057	362102	3,7%	8,72E+00
1*10E5 A (PCA)	383315	377215			
2*10E5 A (PCA)	667248	661148		16970	
2*10E5 A (PCA)	699613	693513	680281	2,5%	1,64E+01
2*10E5 A (PCA)	692283	686183			

Probe A nach Vorschrift
Probe B mit 4min Verzögerung

B.2 Rohdaten der Messungen zur Bestimmung der absoluten ATP-Konzentrationen

Messungen MX1

1. TCA-Verfahren

Zellzahl	RLU	Mittel	Stabw
0	3427	3427	0
5000	151370		
5000	145405	144031	8114
5000	135317		
10000	304266		
10000	305735	306451	2618
10000	309352		
20000	589600		
20000	587864	573498	26401
20000	543029		

Korrel.: 0,99928002
 Reg.Gr.: 28,6391371
 AchsAbschn.: 6259,13333

2. Tris-Verfahren

Zellzahl	RLU	Mittel	Stabw
0	10233	10233	0
5000	677317		
5000	705313	648965	74676
5000	564265		
10000	1276701		
10000	1476392	1343421	115157
10000	1277170		
20000	3474328		
20000	2876045	2931481	517361
20000	2444070		

Korrel.: 0,99868082
 Reg.Gr.: 146,904137
 AchsAbschn.: -51886,2

Messungen S117

1. TCA-Verfahren

Zellzahl	RLU	Mittel	Stabw
0	3427	3427	0
5000	591540		
5000	657278	641530	44270
5000	675773		
10000	1379890		
10000	1432609	1359393	85331
10000	1265680		
20000	2427057		
20000	2298244	2323034	94109
20000	2243802		

Korrel.: 0,99567243
 Reg.Gr.: 116,103554
 AchsAbschn.: 65940,0667

2. Tris-Verfahren

Zellzahl	RLU	Mittel	Stabw
0	10233	10233	0
5000	3197205		
5000	3334604	3265437	68704
5000	3264501		
10000	5047127		
10000	5700280	5441402	346989
10000	5576798		
20000	7933592		
20000	8187763	8118695	162015
20000	8234730		

Korrel.: 0,97608175
 Reg.Gr.: 392,238375
 AchsAbschn.: 776855,8

Eichreihen

Eichreihe TCA-Verfahren

ATP in mol	RLU
0	3427
1,25E-10	468052
2,50E-10	1069553
3,75E-10	1490460
6,00E-10	2383692

Korr.Koeff.: 0,99910243
 Reg.Gr.: 3,981E+15
 Achs.Absch. 8162,36406

Eichreihe Tris-Verfahren

ATP in mol	RLU
0	10233
1,25E-10	2330272
2,50E-10	4000204
3,75E-10	5178878
6,00E-10	7186386

Korr.Koeff.: 0,98538968
 Reg.Gr.: 1,1644E+16
 Achs.Absch. 597432,883

B.3 Rohdaten der ATP-Messungen an MX1-Zellen

MX1 Chloracetalddehyd 20µmol/l

Zeit in min	1. Versuch RLU	Mittel/VK	2. Versuch RLU	RLU-Leer	3. Versuch RLU	RLU-Leer	4. Versuch RLU	RLU-Leer	5. Versuch RLU	6. Versuch RLU	Mittel/VK	RLU-Leer	Mittel/VK
Leerwert	2906		2906		7293		7293		5478		5478		
Kontrolle	5	706094	695567	849486	768758	732542	725249	707957	765337	758064	760234	526552	530166
		681401	678495	697533	694627	765641	669248	735241	535097	529619	539217	529619	539217
		677924	675018	767974	765068	796688	793755	747457	539405	533927	0.66%	533927	0.66%
		730040	669497	766030	763124	772104	707254	689508	545338	569060	559208	671192	671192
	15	634137	631231	753051	750145	606174	598681	663633	572449	568371	678319	663633	678319
		653032	650126	805948	803042	3.57%	769693	762590	670687	663394	7.69%	660525	655047
		674411	671505	691989	759333	762567	634137	613047	592039	586561	601549	659103	653625
	30	721124	718218	786102	783196	599293	591990	656429	608655	603177	679720	674242	674242
		689089	686183	744571	744571	2.55%	735121	4.86%	677618	670325	2.37%	631066	625588
	60	658281	655621	834514	831608	806478	763582	703585	606506	601028	611597	737737	732259
		658275	653375	796463	793557	671847	646554	622629	615935	610457	1.83%	731460	725982
		796173	793267	866276	863370	871080	743475	736182	702747	697269	694523	782984	777506
	120	795445	792539	848749	845843	773318	766025	582429	695722	690244	737399	731921	731921
		680937	678031	906932	904026	3.43%	761372	754079	701534	696056	0.54%	746689	741211
Leerwert	2906		2906		7293		7293		5478		5478		
CAA 20µmol/l	5	676909	674003	684721	734531	731925	749920	717190	699501	501033	498008	617088	611610
		694622	691716	746369	743463	746435	759142	765304	527893	522415	5.90%	669359	663881
		631349	628443	4.91%	777279	774373	2.93%	654116	470054	464576	5.90%	577522	572044
		612465	609559	640356	747700	744794	757725	630715	520787	515309	555764	608285	602807
	15	629000	626094	781392	778486	661689	654396	639520	580259	574781	645259	650737	645259
		688322	685416	6.23%	749896	2.40%	667341	680048	618966	611673	1.66%	628302	622824
		617780	614874	625010	760736	756699	649760	642467	584775	579297	573467	671508	666030
	30	636778	633872	765948	763042	721396	714103	632346	586184	580706	664174	658696	658696
		629191	626285	1.53%	762132	749226	0.92%	752280	56876	560398	1.98%	668026	662548
	60	672063	669157	686367	816487	813581	805249	789989	683437	677959	645055	724376	718898
		719185	716279	824454	821548	719616	706323	532096	606336	645158	5.11%	714214	708736
		678571	673665	3.79%	783523	780617	2.69%	643274	617525	612047	5.11%	686956	681478
		743218	740312	833588	830662	756887	582527	575234	631335	647657	628441	739630	734152
	120	693084	690178	686735	683829	693376	651083	450427	603466	597988	741795	736317	736317
		737019	734113	3.79%	759055	756149	9.70%	602235	645156	638678	4.24%	722201	716723

Signifikanzniveau Student-t-Test (Nullhypothese: Mittel Verum=Mittel Kontrolle)

Zeit in min	p
0	entfällt
5	0.30220
15	0.26536
30	0.46695
60	0.45566
120	0.09194

Zeit in min	1. Versuch	2. Versuch	3. Versuch	4. Versuch	5. Versuch	6. Versuch	Mittel	StdAbw	VK
0	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	0.000	0.00%
5	97%	98%	100%	91%	94%	97%	96%	0.032	3.35%
15	96%	96%	99%	99%	99%	93%	97%	0.023	2.35%
30	90%	99%	114%	98%	95%	102%	100%	0.081	8.12%
60	104%	100%	101%	88%	105%	96%	99%	0.062	6.25%
120	96%	87%	81%	81%	90%	97%	88%	0.071	7.99%

MX1 Chloracetaldehyd 100µmol/l

Zeit in min		1. Versuch		2. Versuch		3. Versuch		4. Versuch		5. Versuch		6. Versuch	
		RLU	Mittel/VK	RLU	Mittel/VK	RLU	Mittel/VK	RLU	Mittel/VK	RLU	Mittel/VK	RLU	Mittel/VK
Leerwert		2906		2906		7293		7293		5478		5478	
Kontrolle	5	706094	703188	849486	846580	768758	732542	725249	707957	725234	762034	526952	530166
		681401	678495	667533	694627	695567	665411	669248	659619	539097	529619	617340	611862
		677924	675018	767974	765068	739375	736638	729375	739375	539405	533927	652039	646561
		730040	727134	669497	766030	763124	772104	714547	689508	583242	575949	631901	559208
		634137	631231	753051	750145	598881	606174	598881	663653	572449	566971	671714	688360
	5	653032	650126	759948	803042	3.57%	769683	762390	12.06%	547071	541593	683797	678319
		744411	671505	691969	759833	762567	641397	634104	613047	592039	586561	659103	653625
		721124	718218	766102	783196	758233	641397	634104	613047	592039	586561	659103	653625
		689089	686183	747477	744571	2.55%	595121	591990	4.89%	620387	614909	679720	674242
		656527	655621	834514	831608	806478	763552	756769	703585	606506	601028	631066	625598
	60	659281	656375	766463	793557	671847	684554	689332	6.73%	615935	610457	735969	730391
		669181	668275	787176	794270	2.70%	697255	689332	6.73%	628784	623306	731460	725982
		796173	793267	86276	863370	871000	743475	736182	732095	702747	697269	762364	777506
		795445	792539	848749	843843	773318	760025	760025	733991	695722	690244	737399	731921
		680937	678031	969932	904026	3.43%	761372	754079	2.00%	701534	696056	746689	741211
Leerwert		2906		2906		7293		7293		5478		5478	
CAA 100µmol/l	5	678016	675110	661137	706495	733324	744152	736889	720118	531270	525792	603613	598135
		652957	650051	724164	721258	725481	718188	718188	488446	488446	483168	607070	601592
		661156	658250	775126	772220	4.70%	712589	705296	2.20%	491031	485553	594832	589354
		632886	629980	640633	761793	788887	728362	654433	647160	583654	578176	629073	623595
		644645	641739	667565	670471	728635	565536	559263	592606	575709	570231	622851	617373
	5	653085	650179	1.58%	731541	728635	8.33%	722615	715322	568873	563395	652024	646546
		588435	585529	577656	776992	774086	722354	637532	630239	571509	566031	623366	617888
		646670	643764	710423	707517	600016	592723	630161	598030	590737	584272	636896	631418
		506581	503675	12.18%	688365	685459	6.39%	674814	667521	589750	584272	600150	594672
		621575	618669	647161	765690	762784	744426	726222	709229	574846	569168	654461	648883
	60	657186	654280	3.97%	763772	760866	725629	718336	553406	562440	556962	660668	655190
		671441	668535	4.05%	712535	709629	683772	676479	515132	664109	648631	722128	716650
		712935	708389	694991	730075	727169	735080	625252	617959	626154	620676	711164	705686
		702952	700046	721161	724067	607993	600700	492180	484887	617916	612338	698598	693120
		678444	675538	2.52%	759816	756910	2.60%	689935	682672	507642	500349	695837	690359

Ergebnisse CAA 100µmol/l

Zeit in min		1. Versuch	2. Versuch	3. Versuch	4. Versuch	5. Versuch	6. Versuch	Mittel	StqAbw	VK
0		100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	0.00%	0
5		96%	95%	102%	91%	94%	94%	96%	0.036	5
5		96%	94%	93%	97%	102%	94%	96%	0.033	15
30		83%	95%	103%	89%	96%	94%	96%	0.066	30
60		98%	92%	98%	92%	97%	92%	95%	0.030	60
120		92%	84%	84%	80%	38%	93%	87%	0.050	120

Signifikanzniveau Student-t-Test (Nullhypothese: Mittel Verum=Mittel Kontrolle)

Zeit in min		p
0		entfällt
5		0,23148
15		0,22488
30		0,10139
60		0,20920
120		0,03594

MX1 Chloracetaldehyd 500µmol/l

Zeit in min	1. Versuch RLU	2. Versuch RLU	3. Versuch RLU	4. Versuch RLU	5. Versuch RLU	6. Versuch RLU
Leerwert	2906	2906	7293	7293	5478	5478
5	706094 685567 681401 677924 739040 634137 653032 674411	849486 685567 675333 767974 766030 750124 805948 691969	768758 732542 676541 736638 714547 606174 769633 762567	725249 707957 669248 793575 707254 598881 762390 613047	526952 530166 529619 533927 569060 566971 541593 601549	650452 636292 611862 646561 671714 688360 683797 655047
30	721124 680089 658261 658181 796173 795445 680937	718218 681183 656271 656375 793267 792539 678031	641397 355121 763592 671847 697225 743475 773318 761372	635197 271416 363285 615356 633504 580178 575136 606127	592039 601549 608655 603177 608655 601026 610457 623306	659103 653625 679720 674242 631066 732259 730669 725982
60	658261 658181 796173 795445 680937	656271 656375 793267 792539 678031	671847 697225 743475 773318 761372	615356 633504 580178 575136 606127	601026 610457 623306 690244 696056	730669 730669 725982 775906 741211
120	680937 677750 693044 677016 601041 628009 635831	679697 783971 786572 805350 743559 733446 768814	789058 644435 713992 695791 68498 666223 663254 658845	677456 637172 706699 688498 5329% 669441 187% 689870	539015 521928 560740 534378 368% 499619 548831 570804	617847 607574 654414 591553 5299% 642512 622826 662425
30	618313 600396 639417 616682 621105	615407 597490 622822 613756 618199	655288 749118 685887 656433 661613	741825 678594 649192 655462 643679	594016 539657 562819 566417 568309	658968 634569 592296 694219 690431
60	621105 254576 269703 247763	618199 251670 266797 244877	661613 654320 308307 187228	643679 654320 308307 187228	568309 594947 327819 264901	719844 291612 318873 286918
120	247763 677750 693044 677016 601041 628009 635831	244877 783971 786572 805350 743559 733446 768814	677456 637172 706699 688498 5329% 669441 187% 689870	677456 637172 706699 688498 5329% 669441 187% 689870	539015 521928 560740 534378 368% 499619 548831 570804	617847 607574 654414 591553 5299% 642512 622826 662425

Ergebnisse CAA 500µmol/l

Zeit in min	1. Versuch	2. Versuch	3. Versuch	4. Versuch	5. Versuch	6. Versuch
0	100%	100%	100%	100%	100%	100%
5	99%	103%	96%	102%	97%	96%
30	92%	97%	97%	97%	96%	96%
60	89%	86%	113%	86%	94%	94%
120	94%	94%	93%	79%	94%	95%

Signifikanzniveau Student-t-Test (Nullhypothese: Mittel Verum=Mittel Kontrolle)

Zeit in min	p
0	entfällt
5	0,38357
15	0,21360
30	0,10169
60	0,14803
120	0,00000

MX1 Fluoracetat 500µmol/l

Zeit in min	1. Versuch RLU	RLU-Leer	Mittel/VK	2. Versuch RLU	RLU-Leer	Mittel/VK	3. Versuch RLU	RLU-Leer	Mittel/VK	4. Versuch RLU	RLU-Leer	Mittel/VK	5. Versuch RLU	RLU-Leer	Mittel/VK	6. Versuch RLU	RLU-Leer	Mittel/VK
Leervert	9222			9222			4132			4152			6494			6494		
5	605724	596502	571830	645876	636654	601033	494639	490487	458398	528559	525407	514165	361493	354999	330813	286449	279855	275857
	567252	558030		606248	597026		451445	447293		512359	509007		320582	314088		274968	268474	
	570181	560959	3,75%	578640	569418	5,62%	441556	437414	6,16%	512234	508082	1,90%	329845	323351	6,48%	285636	279142	2,32%
	569109	579887	570638	565193	575971	588381	458887	454715	450674	497487	493345	505124	294403	287909	293632	262405	255911	250877
-5	573985	564763		564738	604156		461188	457036		518592	514440	2,22%	293206	286712	3,73%	255199	249705	1,82%
	577087	567865	1,40%	564239	585017	2,45%	444423	440271	2,02%	555973	551821	549475	258901	252407	280451	233550	227056	248915
30	584419	575197	567275	666005	598783	601755	454163	447491	474700	555973	551821	549475	258901	252407	280451	233550	227056	248915
	591673	582451		567246	589024		495411	491759		595135	590983		294360	287866		251828	245934	
	553400	544178		629679	620457	2,79%	489501	485349	5,00%	569774	565622		307704	301210	8,99%	280849	274355	9,58%
	586393	577161	3,58%	629679	620457	2,79%	513629	511677		572929	568777	334349	264677	258183		247361	240687	253384
60	616899	609477		574634	564412		506532	502380		511440	507288		286877	283184		272294	265800	
	615888	606566	2,99%	550743	587521	4,38%	496931	492779	1,88%	531134	526982	5,88%	295978	283184	7,47%	259978	253484	4,92%
	651698	642476	677152	624742	613520	604241	521551	517409	518683	538119	531967	539204	332987	326493	307903	296050	289556	298042
120	709050	699828		605640	594418		509476	505324		552933	548781		308992	302398		231208	224714	
	698374	689152	4,50%	610088	600786	1,66%	537457	533315	2,71%	541017	536865	1,60%	301312	294818	5,37%	296349	289855	14,00%
Leervert	9222			9222			4132			4152			6494			6494		
FAC 500µmol/l																		
5	621939	612717	599028	682045	672823	623636	457981	453829	441514	506438	502286	491209	330393	323889	308451	296729	290235	256840
	627374	618152		623654	614432		457680	453508		476915	472763		296827	290333		252216	245722	
	575437	566215	4,77%	582876	583654	7,26%	421336	417204	4,77%	502731	498579	3,27%	311735	305241	5,49%	241057	234563	11,47%
	568418	559196	564254	552653	543431	557934	426734	422602	422904	492199	488047	501152	287504	281010	293409	246227	239733	244523
-5	571844	562622		569539	560317		437088	432946		514961	510809		296372	289878		270949	264455	
	580166	570944	1,07%	579277	570055	2,41%	417315	413163	2,34%	508752	504600	2,35%	315833	309339	4,94%	235875	229381	7,37%
30	570342	561120	565640	612068	602846	615474	460575	456423	458978	508000	503848	512175	279969	273475	268572	272340	265846	247374
	571273	562051		638779	629557		496031	491879		526316	522164		271836	265342		240149	233655	
	582971	573749	1,24%	632340	614018	2,18%	432783	428631	6,91%	514666	510514	1,81%	273392	266888	1,61%	249115	242621	8,72%
	638345	627123	622803	622487	613265	599622	468430	464278	501147	545627	541475	534191	299214	292720	295912	208205	201711	214193
60	643387	634165		628948	619726		518739	514537		548524	544372		304332	297178		244853	238359	
	618344	607122	2,25%	575096	568974	4,90%	528679	524527	6,45%	520878	516726	2,84%	304332	297839	0,94%	209004	202510	9,77%
	688895	677663	665415	627965	618743	600493	541257	537115	541005	520244	516022	508790	300422	293828	300977	280544	274050	251531
120	654275	645053		611730	572568		550235	546073		501118	496966		312755	306241		267172	260678	
	682732	673530	2,67%	619391	610169	4,09%	543978	539626	0,85%	517464	51312	2,03%	309255	302761	2,11%	226360	219666	11,22%

Ergebnisse FAC 500µmol/l

Zeit in min	1. Versuch	2. Versuch	3. Versuch	4. Versuch	5. Versuch	6. Versuch	Mittel	SigAwb	VK
0	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	0,00%	0,00%
5	105%	104%	96%	96%	93%	93%	96%	0,053	5,41%
-5	99%	95%	94%	99%	100%	97%	97%	0,025	2,53%
30	100%	102%	97%	93%	96%	96%	96%	0,032	3,32%
60	104%	102%	100%	100%	106%	85%	95%	0,076	7,65%
120	98%	99%	104%	94%	98%	94%	98%	0,038	3,88%

Signifikanzniveau Student-t-Test (Nullhypothese: Mittel Verum=Mittel Kontrolle)

Zeit in min	p
0	entfällt
5	0,47338
15	0,43860
30	0,46021
60	0,49153
120	0,45798

MX1 Oligomycin 50µmol/l

Zeit in min		1. Versuch RLU	2. Versuch RLU	3. Versuch RLU	4. Versuch RLU	5. Versuch RLU	6. Versuch RLU
Leerwert		8531	8531	5506	5506	11549	11549
Kontrolle		Mittel/VK	Mittel/VK	Mittel/VK	Mittel/VK	Mittel/VK	Mittel/VK
5	811271	902740	670512	465731	450275	394396	401380
	671331	662800	668199	410078	404572	382242	370693
-5	674776	666245	637088	626557	3.64%	417737	491765
	608637	600106	670552	596521	561184	4331242	425736
30	580246	571715	522224	433320	427814	480730	409274
	564139	555608	3.91%	571339	562808	6.80%	434075
60	641389	638388	650374	604362	598631	627035	456343
	676713	668182	646954	638423	648831	443325	448931
120	655632	647101	2.52%	655382	646851	4.36%	468207
	681539	673008	670185	60097	591366	601079	476284
30	681539	673008	670185	60097	591366	601079	476284
	685309	677778	1.39%	62716	594185	2.37%	479387
60	718022	708491	669425	658698	650167	659300	489145
	700750	692219	648201	638670	509075	503569	507039
120	615037	606566	8.23%	666593	688062	3.86%	529415
	615037	606566	8.23%	666593	688062	3.86%	529415
Leerwert		8531	8531	5506	5506	11549	11549
Oligom. 50µmol/l		674495	665964	634048	667761	658230	645252
5	611725	603194	649874	641343	427598	416365	416365
	641518	632987	4.95%	643714	635183	418132	412646
-5	543260	534729	531101	555262	546731	566643	408533
	505882	497351	574008	565477	420411	414905	403027
30	569755	561224	6.04%	56252	587721	3.62%	412500
	659483	649952	615615	561678	553147	582932	451036
60	599818	591287	620687	612156	433508	436324	439014
	614138	605607	4.97%	562023	583492	5.06%	435389
120	646347	637816	623283	659847	654416	607170	464849
	615504	606973	2.49%	569919	581388	472987	459343
30	633501	625060	6.34%	490723	485217	2.74%	485217
	684706	676175	673598	536348	535117	549845	510340
60	671949	663416	505669	582038	501754	486258	486258
	690752	682221	1.42%	540910	532379	5.08%	540910
Leerwert		8531	8531	5506	5506	11549	11549
Oligom. 50µmol/l		674495	665964	634048	667761	658230	645252
5	611725	603194	649874	641343	427598	416365	416365
	641518	632987	4.95%	643714	635183	418132	412646
-5	543260	534729	531101	555262	546731	566643	408533
	505882	497351	574008	565477	420411	414905	403027
30	569755	561224	6.04%	56252	587721	3.62%	412500
	659483	649952	615615	561678	553147	582932	451036
60	599818	591287	620687	612156	433508	436324	439014
	614138	605607	4.97%	562023	583492	5.06%	435389
120	646347	637816	623283	659847	654416	607170	464849
	615504	606973	2.49%	569919	581388	472987	459343
30	633501	625060	6.34%	490723	485217	2.74%	485217
	684706	676175	673598	536348	535117	549845	510340
60	671949	663416	505669	582038	501754	486258	486258
	690752	682221	1.42%	540910	532379	5.08%	540910

Signifikanzniveau Student-t-Test (Nullhypothese: Mittel Verum=Mittel Kontrolle)

Zeit in min		p
0		0
5		0.38473
-5		15
30		0.38369
60		60
120		0.38887

Ergebnisse		Oligom. 50µmol/l						VK	
Zeit in min		1. Versuch	2. Versuch	3. Versuch	4. Versuch	5. Versuch	6. Versuch	Mittel	StuAbw
0		100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	0,000
5		89%	98%	100%	98%	100%	92%	94%	95%
-5		92%	101%	96%	96%	98%	92%	90%	94%
30		95%	93%	96%	97%	94%	97%	95%	95%
60		93%	101%	100%	96%	87%	82%	92%	93%
120		101%	83%	101%	92%	98%	92%	94%	94%

MX1 Oxamat 100mmol/l + Chloracetaldehyd 20µmol/l

Zeit in min	1. Versuch RLU	2. Versuch RLU	3. Versuch RLU	4. Versuch RLU	5. Versuch RLU	6. Versuch RLU
Leerwert	4242	4242	6403	6403	3424	3424
Kontrolle						
5	537698 551026 524694	533564 585482 520452	588240 849030 839237	674854 62451 575596	384813 425946 417722	281031 256410 241042
-5	563296 559044 554236	548205 606665 610126	610805 802832 829579	553382 552979 502856	429832 426408 394382	250582 247158 265946
30	5559820 535578 559391	535578 2.16% 561345	823512 817109 820217	519446 513043 471760	378125 374201 302834	288370 261718 317704
60	572205 568963 565334	572205 568963 565334	820039 813006 79817	512399 51214 475%	30647 327223 302834	317704 314280 300625
120	627994 623752 658004	627994 623752 658004	719530 715288 709773	490093 491690 476998	195556 196132 296008	152305 148881 257640
Leerwert	4242	4242	6403	6403	3424	3424
Ox+CAA 20µmol/l						
5	417815 401070 385199	397119 424681 386828	427013 420439 396863	445283 393260 391621	339499 293784 285617	290090 271342 183954
-5	294720 295831 293029	290478 290285 288787	325460 326521 332339	278097 271694 260899	206611 203187 165889	183420 140413 131743
30	246536 235750 239329	242294 237710 235087	266125 261732 25490	473661 480034 325036	218032 214608 152226	128319 141194 152467
60	172351 178905 172351	168109 167625 167625	201925 203932 204347	197844 211428 197844	91749 84018 565640	34322 30898 53156
120	169901 154986 165934	156659 150744 161712	172365 172365 172365	162107 155705 157285	54208 63954 59973	49732 60245 60653

Signifikanzniveau Student-t-Test (Nullhypothese: Mittel mit Ox.=Mittel ohne Ox.)

Zeit in min	p
0	0
5	0,08632
15	0,01183
30	0,00611
60	0,00231
120	0,00363

Signifikanzniveau Student-t-Test (Nullhypothese: Mittel mit Ox.=Mittel ohne Ox.)

Zeit in min	p
0	0
5	0,29613
15	0,63723
30	0,23244
60	0,32786
120	0,03328

Ox+CAA 20µmol/l

Zeit in min	1. Versuch	2. Versuch	3. Versuch	4. Versuch	5. Versuch	6. Versuch
Leerwert	100%	100%	100%	100%	100%	100%
Kontrolle						
5	74%	73%	70%	75%	78%	78%
-5	53%	53%	53%	49%	49%	49%
30	42%	42%	42%	43%	43%	43%
60	29%	31%	31%	29%	25%	25%
120	25%	24%	24%	23%	25%	25%

Oxamat 100mM

Zeit in min	1. Versuch	2. Versuch	3. Versuch	4. Versuch	5. Versuch	6. Versuch
Leerwert	100%	100%	100%	100%	100%	100%
Kontrolle						
5	69%	69%	76%	74%	74%	71%
-5	53%	57%	52%	52%	52%	52%
30	43%	42%	44%	44%	44%	44%
60	34%	32%	35%	33%	28%	28%
120	32%	27%	31%	27%	28%	28%

MX1 Oxamat 100mmol/l + Chloracetaldehyd 100µmol/l

Zeit in min	1. Versuch RLU	2. Versuch RLU	Mittel/VK	3. Versuch RLU	Mittel/VK	4. Versuch RLU	Mittel/VK	5. Versuch RLU	Mittel/VK	6. Versuch RLU	Mittel/VK
Leerwert	4242	4242		6403		6403		3424		3424	
Kontrolle	537698	533564	535564	588240	582657	849060	842657	388237	384813	409484	281031
5	551026	546784	548982	585240	582657	839287	832984	429370	425546	241042	256410
	524694	520452	522573	583053	580523	839382	832979	421146	417722	250582	247158
	562286	559044	560665	602423	610805	909282	902859	429832	426408	399497	371127
15	554236	549994	552115	610126	605053	826936	822533	397806	394382	289946	285946
	559820	555778	557799	624107	619865	823512	817109	378125	374701	265142	261718
	555991	549739	552865	618234	613992	830217	823814	478103	474760	317704	314280
30	573205	568963	571084	634384	630142	746220	739817	266593	263169	304049	300625
	569576	565334	567455	646871	642629	820009	813606	321834	318410	251060	247636
60	613943	609701	611822	665603	661351	712120	705717	468523	464988	156527	153103
	598629	594387	596508	651251	647009	673363	669960	320259	316635	239129	235705
	627994	619556	623775	716321	712079	720497	716321	347514	344090	179299	175875
120	627994	623752	625873	719530	715288	653089	646886	195556	196132	152305	148881
	660046	655804	657925	738366	734124	716176	709773	299432	296008	261064	257640
Leerwert	4242	4242		6403		6403		3424		3424	
Ox+CAA 100µmol/l	413563	390289	401926	43984	420738	555722	549319	410939	409656	410934	245836
5	389785	385543	387664	403425	399183	553000	546597	357704	354280	222644	219220
	380246	376004	378125	435289	431047	550828	544425	308625	305201	171999	171999
	282956	278714	280835	316524	312282	394185	387782	259261	255847	171234	167914
15	292884	288642	290763	320905	316663	422066	415663	249252	245836	155982	152558
	287565	283323	285444	318239	313997	396357	389954	284919	281516	109939	106515
30	210659	206417	208538	245801	241559	289404	283001	166121	162666	101867	98386
	200148	195906	198027	231969	227727	272563	266160	135562	132138	75916	72492
	153837	149595	151716	232339	228081	265249	258846	96706	93282	51600	48176
60	175786	171544	173665	167135	162893	161392	156486	101415	97991	79991	76486
	158013	153771	155892	170744	166502	189735	183332	70296	66872	85744	81611
	144501	140259	142380	170992	166502	189735	183332	11295	10761	94736	91312
120	141511	137269	139390	153750	149387	143488	137085	71832	68408	67279	64593
	150739	146497	148618	161563	157321	140661	134258	69573	66149	50243	46819

Signifikanzniveau Student-t-Test (Nullhypothese: Mittel Verum=Mittel Kontrolle)

Zeit in min	p
0	entfällt
5	0,06674
15	0,00927
30	0,00315
60	0,00221
120	0,00324

Signifikanzniveau Student-t-Test (Nullhypothese: Mittel mit Ox.=Mittel ohne Ox.)

Zeit in min	p
0	entfällt
5	0,44416
15	0,06304
30	0,00319
60	0,13540
120	0,00102

Ox+CAA 100µmol/l

Zeit in min	1. Versuch	2. Versuch	3. Versuch	4. Versuch	5. Versuch	6. Versuch	Mittel	StdAbw	VK
0	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	0,000	0,00%
5	73%	72%	72%	67%	68%	74%	72%	0,062	8,51%
15	52%	52%	52%	47%	49%	43%	44%	0,038	7,93%
30	36%	37%	37%	34%	35%	34%	35%	0,041	12,35%
60	27%	25%	25%	27%	25%	30%	26%	0,036	12,94%
120	22%	22%	21%	21%	20%	24%	22%	0,016	7,28%

Oxamat 100mM

Zeit in min	1. Versuch	2. Versuch	3. Versuch	4. Versuch	5. Versuch	6. Versuch	Mittel	StdAbw	VK
0	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	0,000	0,00%
5	69%	69%	78%	78%	74%	88%	69%	0,032	4,54%
15	53%	51%	53%	53%	52%	52%	52%	0,035	6,64%
30	43%	42%	42%	42%	44%	38%	42%	0,022	5,46%
60	34%	32%	35%	33%	33%	28%	31%	0,037	11,92%
120	32%	27%	31%	31%	27%	28%	28%	0,026	9,29%

MX1 Oxamat 100mmol/l + Chloracetaldehyd 500µmol/l

Zeit in min	1. Versuch RLU	RLU-Leer	Mittel/VK	2. Versuch RLU	RLU-Leer	Mittel/VK	3. Versuch RLU	RLU-Leer	Mittel/VK	4. Versuch RLU	RLU-Leer	Mittel/VK	5. Versuch RLU	RLU-Leer	Mittel/VK	6. Versuch RLU	RLU-Leer	Mittel/VK
Leerwert	4242			4242			6403			6403			3424			3424		
Kontrolle	537698	53456	533564	604668	600426	588240	849030	842857	836173	678854	672451	605582	388237	384813	409464	284455	281031	256410
5	551026	546784	555482	581240	583053	1.80%	839287	832884	0.67%	581999	575596	10.52%	429370	425946	5.32%	244466	241042	8.40%
	524694	520452	2.47%	567295	583053	610805	908282	902859	847500	560102	553699	520825	429832	426408	398467	371127	267158	273832
-5	563286	559044	548205	606665	602423	610805	828936	825233	809361	502856	496453	5.58%	397806	394382	288370	265946		
	554236	549994	614368	610126	614368	1.43%	823512	817109	5.67%	519446	513043	5.58%	378125	374201	6.55%	265142	261718	8.26%
	539820	535578	2.16%	624107	619865	619865	830217	828814	792412	478163	471760	4.9901	330847	327223	302934	317704	314280	297514
30	555981	549739	561345	618234	619922	628921	820029	799817	813506	520702	514299	4.75%	266593	263169	300499	300499	300625	12.24%
	572205	568963	634384	630142	634384	1.82%	820029	813506	5.78%	517617	512124	4.75%	321834	318410	11.46%	251060	247636	12.24%
	569595	565334	1.82%	646871	640429	2.28%	820029	813506	5.78%	468523	462120	4.69468	258191	254767	286469	156521	153103	256776
60	613943	609701	595354	665603	661251	641009	666353	659960	3.36%	473836	467433	0.85%	320239	316635	239129	339495	335705	
	586217	581975	612511	650110	643668	1.33%	687356	680953	3.36%	473836	467433	0.85%	297319	293895	10.88%	384951	381527	45.04%
	598629	594387	2.33%	650110	643668	1.33%	687356	680953	3.36%	523746	517343	4.95344	347514	344090	278743	179299	175875	194132
120	624098	619856	633137	716321	712079	720497	664543	658400	671533	490993	491690	1.52305	199556	196132	152305	148881		
	627994	623752	719530	719530	715288	1.65%	653089	646886	5.00%	483401	476998	4.12%	299432	296008	27.08%	261064	257640	29.17%
	660046	655804	3.12%	738366	734124	1.65%	716176	709773	5.00%	6403			3424			3424		
Leerwert	4242			4242			6403			6403			3424			3424		
Ox+CAA 500µmol/l	387336	383114	375080	448838	444596	429405	575291	568888	551324	410354	403951	377243	283459	280035	275277	278175	274751	198538
5	372326	368084	429357	428115	428115	551071	557474	551071	3.16%	378123	371720	6.47%	273942	270518	2.44%	187047	183623	35.24%
	378285	374043	2.02%	422746	418504	3.16%	540416	534013	3.16%	362460	356057	6.47%	190456	186430	156164	140663	137239	79930
-5	262828	258586	287526	281055	276813	287751	392244	385841	384733	274607	268204	248571	164630	161206	156164	129322		
	260603	256361	295260	295260	295260	352256	358639	352256	8.30%	233636	227233	8.25%	162499	159075	4.46%	84500	81076	
	291873	287631	6.52%	255423	291181	3.37%	422506	416103	8.30%	256680	250277	8.25%	151636	148212	4.46%	82208	78784	2.03%
30	945432	167459	171860	167459	183217	173256	242013	235610	235636	188825	182422	160060	138820	135496	135253	138411	134987	102078
	167391	163149	163273	159031	159031	219110	212707	212707	9.74%	167645	161242	14.35%	83887	83433	104000	104000	100576	
	184813	180571	7.17%	181761	177519	7.30%	264995	258592	9.74%	142919	136516	14.35%	138433	135009	0.25%	74094	70670	31.53%
60	80191	75949	68043	83081	83081	83783	73745	73745	73628	54754	48351	50419	30397	26973	28944	23296	19871	30183
	73535	69283	69310	85068	85068	70203	76606	70203	11.59%	58980	52487	5.80%	34339	30914	9.63%	42800	39376	
120	80970	76728	5.52%	66721	82479	1.55%	89742	83339	11.59%	83376	83376	2712	46324	36914	9.63%	34756	31392	32.47%
	31808	27566	26509	33779	26537	31285	18458	12055	8281	9115	2712	2684	6792	3368	4425	9033	5609	2421
	28913	24671	57274	33032	33032	11419	15016	15016	9.49%	9058	2655	2684	9046	5922	4425	2790	4634	
	31532	27290	6.03%	28523	33032	7.90%	14176	7773	42.83%	8428	2655	2684	7409	3985	30.12%	5711	2287	123.04%

Ergebnisse Ox+CAA 500µmol/l

Zeit in min	1. Versuch	2. Versuch	3. Versuch	4. Versuch	5. Versuch	6. Versuch	Mittel	StdAbw	VK
0	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	0.00	0.00%
5	70%	73%	66%	63%	57%	77%	66%	0.053	7.57%
-5	49%	47%	45%	48%	39%	29%	43%	0.075	17.56%
30	31%	28%	30%	32%	45%	36%	33%	0.061	18.39%
60	12%	13%	11%	11%	10%	12%	11%	0.011	9.49%
120	4%	4%	1%	1%	2%	1%	2%	0.016	75.05%

Signifikanzniveau Student-t-Test (Nullhypothese: Mittel mit Ox.=Mittel ohne Ox.)

Zeit in min	p
0	entfällt
5	0.0380
15	0.0605
30	0.00312
60	0.00103
120	0.00139

Ergebnisse Oxamat100mM

Zeit in min	1. Versuch	2. Versuch	3. Versuch	4. Versuch	5. Versuch	6. Versuch	Mittel	StdAbw	VK
0	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	0.00	0.00%
5	69%	69%	76%	74%	58%	69%	71%	0.032	4.54%
-5	53%	57%	52%	52%	52%	46%	52%	0.035	6.64%
30	43%	42%	44%	44%	38%	41%	40%	0.022	5.46%
60	34%	32%	33%	33%	28%	31%	30%	0.037	11.92%
120	32%	27%	27%	27%	28%	25%	26%	0.026	9.29%

Signifikanzniveau Student-t-Test (Nullhypothese: Mittel mit Ox.=Mittel ohne Ox.)

Zeit in min	p
0	entfällt
5	0.6495
15	0.02901
30	0.02455
60	0.00002
120	0.00000

MX1 Oxamat 100mmol/l + Fluoracetat 500µmol/l

Zeit in min	1. Versuch RLU	Mittel/VK	2. Versuch RLU	RLU-Leer	Mittel/VK	3. Versuch RLU	RLU-Leer	Mittel/VK	4. Versuch RLU	RLU-Leer	Mittel/VK	5. Versuch RLU	RLU-Leer	Mittel/VK	6. Versuch RLU	RLU-Leer	Mittel/VK
Leerwert	9222		9222		4132		4132		4152		4152		6494		6494		
Kontrolle	605724	596502	571830	645676	636654	601033	494639	490487	458398	528559	525407	514165	361493	354999	330813	286449	275857
5	567252	558030	57026	606248	597026	582%	451445	447293	6.16%	513159	509007	514165	320582	314088	6.48%	274968	268474
	570181	560959	578640	578640	594118	5.62%	441556	437414	6.16%	512234	508082	1.90%	329845	323351	6.48%	285636	279142
-5	589109	579887	570638	565193	575971	588381	458887	454715	450674	491470	510588	505124	312768	306274	293632	262405	255811
	573985	564763	613378	604156	61138	457036	461188	457036	497487	493345	493345	294403	287909	287909	253508	247014	250877
	584017	567865	1.40%	564239	585017	2.45%	444423	440791	2.02%	518592	514440	2.22%	293206	286712	3.73%	256199	249705
30	594173	575197	567275	660005	598783	601755	451633	447491	474700	555973	551821	549475	258901	252407	280451	233550	227056
	591673	582451	567246	598024	589024	491759	495411	491759	500%	595135	590983	3.17%	204360	207856	280849	251828	245934
	553400	544178	596779	620457	620457	2.79%	489591	485349	5.00%	572929	568777	334349	307704	301210	8.99%	247361	240687
	586383	577161	597768	635061	635061	513629	513629	502380	50279	511440	507288	3.17%	306563	299769	280379	272294	265800
60	616889	608477	574634	568412	568412	508532	508532	502380	1.88%	531334	526982	5.88%	298678	283183	7.47%	259978	253484
	615888	606566	2.99%	550743	581521	4.38%	496931	492779	1.88%	531334	526982	5.88%	332987	326493	307903	296050	289556
	651688	642476	677152	624742	613520	604241	521551	517409	518683	559333	548781	532004	308992	302398	231208	224714	288042
120	709050	698828	605640	605640	594418	509476	505324	505324	2.71%	541017	538865	1.60%	301312	294818	5.37%	296349	289855
	688374	689152	4.50%	610088	600786	1.66%	537457	533315	2.71%	541017	538865	1.60%	301312	294818	5.37%	296349	289855
Leerwert	9222		9222		4132		4132		4152		4152		6494		6494		
Ox+FAC 500µmol/l	433352	424130	426493	473056	463834	435879	325638	321456	307825	379771	375619	375091	249581	243087	224037	214327	198003
5	444886	435664	441543	433321	433321	306516	306516	302364	3.86%	379771	375619	375091	249581	243087	224037	214327	198003
	428906	419684	1.93%	420703	411481	6.05%	303808	299556	3.86%	379771	375619	375091	249581	243087	224037	214327	198003
-5	315449	306227	317052	328042	318820	318963	247033	242901	244759	309905	306516	291153	157256	150762	147264	130694	124200
	329944	320722	320848	320848	31626	251038	251038	251038	2.28%	277338	273186	142081	135587	124131	117637	126131	117637
	333429	324207	3.01%	335664	326442	2.32%	244490	240338	2.28%	298672	294520	5.68%	161936	155442	7.05%	126796	120302
30	264018	254796	251477	266059	256837	261922	221516	217364	203989	261848	257696	239924	136262	129768	120368	102516	96022
	259605	250383	275126	265904	265904	19130	195282	19130	6.43%	235229	231077	121189	114695	104869	98375	104869	98375
	258473	249251	1.17%	272246	263024	1.77%	207626	203474	6.43%	226151	221999	7.83%	123134	116640	6.81%	92449	85955
60	220404	211182	210961	220771	21549	211837	177432	173280	169113	175096	170944	173711	94750	88256	86739	71180	64886
	224687	215465	218095	208873	208873	170356	166204	167855	2.19%	181833	176581	187508	92982	85788	1.53%	80118	73624
	215458	206236	2.19%	224372	215150	1.49%	172007	167855	2.19%	191660	187508	4.68%	92982	85788	1.53%	80118	73624
	628109	618887	637874	161775	172553	174909	163630	159238	167829	172789	170637	152487	98071	92577	85041	81641	75147
120	663750	654528	160280	171058	171058	165133	160981	160981	148663	150815	148663	98071	92577	85041	81641	75147	67552
	649430	640208	2.81%	150337	181115	3.10%	186531	182379	7.63%	159314	155162	7.72%	87222	80828	6.88%	74285	67771

Ergebnisse Ox+FAC 500µmol/l

Zeit in min	1. Versuch	2. Versuch	3. Versuch	4. Versuch	5. Versuch	6. Versuch	Mittel	StdAbw	VK
0	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	0.000	0.00%
5	75%	73%	67%	73%	67%	71%	71%	0.030	4.22%
-5	56%	54%	54%	58%	50%	48%	55%	0.035	6.58%
30	44%	44%	43%	43%	38%	42%	40%	0.024	5.75%
60	35%	36%	34%	31%	27%	33%	33%	0.032	9.82%
120	94%	29%	32%	28%	25%	25%	26%	0.269	67.85%

Signifikanzniveau Student-t-Test (Nullhypothese: Mittel mit Ox.=Mittel ohne Ox.)

Zeit in min	IC
0	entfällt
5	15
15	0.00827
30	0.00342
60	0.00160
120	0.01704

Ergebnisse Oxamat 100mM

Zeit in min	1. Versuch	2. Versuch	3. Versuch	4. Versuch	5. Versuch	6. Versuch	Mittel	StdAbw	VK
0	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	0.000	0.00%
5	69%	69%	76%	74%	58%	69%	71%	0.032	4.54%
-5	53%	57%	52%	52%	52%	52%	52%	0.035	6.64%
30	43%	42%	44%	44%	38%	41%	40%	0.022	5.46%
60	34%	32%	35%	33%	28%	31%	30%	0.037	11.92%
120	32%	27%	31%	27%	28%	28%	28%	0.026	9.29%

Signifikanzniveau Student-t-Test (Nullhypothese: Mittel mit Ox.=Mittel ohne Ox.)

Zeit in min	IC
0	entfällt
5	0.79698
15	0.53123
30	0.39881
60	0.43748
120	0.35513

MX1 Oxamat 100mmol/l + Oligomycin 10µmol/l

Zeit in min	1. Versuch RLU	Mittel/VK	2. Versuch RLU	RLU-Leer	Mittel/VK	3. Versuch RLU-Leer	RLU-Leer	Mittel/VK	4. Versuch RLU-Leer	RLU-Leer	Mittel/VK	5. Versuch RLU-Leer	RLU-Leer	Mittel/VK	6. Versuch RLU	RLU-Leer	Mittel/VK	
Leerwert	9222	596502	6222	63654	601033	4132	494639	490497	458398	4152	595959	525407	511165	6494	286449	279655	275857	
Kontrolle	5	567252	558030	60248	597026	451445	447293	447293	6.18%	513159	509007	320582	314088	320582	274968	268474	232327	
		570181	560959	3.75%	578640	569418	5.82%	441536	447414	430674	512234	508082	329845	323351	285636	279142	232327	
		569109	579887	570638	565193	575971	568381	458857	454715	430674	514740	510688	505124	293632	285636	259111	250877	
-5	5	573985	564763	613378	604156	461138	457036	497497	493345	294403	287909	253508	247014	265087	247014	250877	232327	
		577087	567865	1.40%	564239	568017	2.45%	444233	440271	2.02%	518592	514440	2.22%	293206	286712	256199	249705	1.82%
		584419	575197	567275	660005	596783	601755	451633	474701	474700	555973	551821	549475	258901	252407	233550	227056	248915
30	591673	582451	572746	598024	595411	491769	485491	491769	485491	535135	530983	294350	287856	251828	245934	245934	245934	
		553400	544178	597766	629679	620457	2.79%	489591	485349	5.00%	572929	568774	334349	307704	301210	280849	274355	3.58%
		596383	577161	597766	629679	620457	2.79%	489591	485349	5.00%	572929	568774	334349	307704	301210	280849	274355	3.58%
60	616899	609477	574634	636412	605532	502380	511677	502380	511677	511440	507288	284677	283184	272294	265800	253484	253484	
		615888	606566	2.99%	550743	538521	4.38%	496931	492739	1.88%	531334	526982	289678	283184	272294	265800	253484	253484
		651698	642476	677152	624742	613520	604241	521551	517409	518683	536119	531967	532004	332987	326493	296500	289556	289042
120	709050	698828	605640	596418	509476	505324	509476	505324	509476	559333	548781	308992	302398	231208	224714	231208	224714	
		698374	689152	4.50%	610008	600786	1.66%	537457	533315	2.71%	415127	410152	1.60%	301312	294818	296349	289855	14.00%
		9222	9222	9222	9222	4132	4132	4132	4132	4132	4132	4132	4132	4132	4132	4132	4132	4132
Leerwert	53035	43813	40602	47508	43416	42327	54009	49857	47050	50683	46531	41094	34600	33395	36204	29710	0.11%	
Ox-OM 10µmol/l	5	48398	39176	47993	38771	46111	41959	46111	41959	46111	48913	44761	5.50%	39889	33395	36204	29710	0.11%
		48038	38816	6.86%	46904	37682	1.42%	45738	41606	2.27%	18594	14442	14418	8079	2377	2127	2696	
		5711	6613	16376	7154	7313	14000	9848	9351	19080	14928	3.63%	8871	2377	2377	9219	3235	20.57%
-5	15830	6608	16047	6825	13004	8852	13004	8852	13004	18035	13883	3.63%	9016	2522	4.19%	9729	3235	20.57%
		6608	16047	6825	13004	8852	13004	8852	13004	18035	13883	3.63%	9016	2522	4.19%	9729	3235	20.57%
		6608	16047	6825	13004	8852	13004	8852	13004	18035	13883	3.63%	9016	2522	4.19%	9729	3235	20.57%
30	16563	7521	1368%	17183	7961	7.96%	12981	8829	9567	18964	14812	13126	9310	2816	2947	8962	2468	2418
		7521	1368%	17183	7961	7.96%	12981	8829	9567	18964	14812	13126	9310	2816	2947	8962	2468	2418
		7521	1368%	17183	7961	7.96%	12981	8829	9567	18964	14812	13126	9310	2816	2947	8962	2468	2418
30	15438	6216	5669	15631	6409	6230	12981	8829	9567	18964	14812	13126	9310	2816	2947	8962	2468	2418
		6216	5669	15631	6409	6230	12981	8829	9567	18964	14812	13126	9310	2816	2947	8962	2468	2418
		6216	5669	15631	6409	6230	12981	8829	9567	18964	14812	13126	9310	2816	2947	8962	2468	2418
60	14743	5521	8.37%	14771	5549	9.81%	15073	10921	1228%	16822	12670	11.51%	9571	3077	6.26%	8861	2367	2.95%
		5521	8.37%	14771	5549	9.81%	15073	10921	1228%	16822	12670	11.51%	9571	3077	6.26%	8861	2367	2.95%
		5521	8.37%	14771	5549	9.81%	15073	10921	1228%	16822	12670	11.51%	9571	3077	6.26%	8861	2367	2.95%
60	17428	8206	7887	16686	7464	7550	15040	10888	11048	18144	13992	14844	9881	3387	3361	9150	2656	2541
		8206	7887	16686	7464	7550	15040	10888	11048	18144	13992	14844	9881	3387	3361	9150	2656	2541
		8206	7887	16686	7464	7550	15040	10888	11048	18144	13992	14844	9881	3387	3361	9150	2656	2541
60	16789	7567	16797	7575	15359	11207	15359	11207	15359	18309	14157	4114	10608	9675	8432	2426	5.40%	451
		7567	16797	7575	15359	11207	15359	11207	15359	18309	14157	4114	10608	9675	8432	2426	5.40%	451
		7567	16797	7575	15359	11207	15359	11207	15359	18309	14157	4114	10608	9675	8432	2426	5.40%	451
120	23870	6850	573%	13299	4077	3358	13652	9500	10056	13104	8952	9592	8298	1794	2069	8025	101	-451
		6850	573%	13299	4077	3358	13652	9500	10056	13104	8952	9592	8298	1794	2069	8025	101	-451
		6850	573%	13299	4077	3358	13652	9500	10056	13104	8952	9592	8298	1794	2069	8025	101	-451
120	15196	5974	11952	2730	13933	9211	13933	9211	13933	13660	9508	7634	1340	6595	5492	101	-102	-173.13%
		5974	11952	2730	13933	9211	13933	9211	13933	13660	9508	7634	1340	6595	5492	101	-102	-173.13%
		5974	11952	2730	13933	9211	13933	9211	13933	13660	9508	7634	1340	6595	5492	101	-102	-173.13%
120	16011	6789	7.48%	12490	3268	20.19%	13610	11458	12.16%	14468	10316	7.15%	9567	3073	43.43%	9492	-102	-173.13%
		6789	7.48%	12490	3268	20.19%	13610	11458	12.16%	14468	10316	7.15%	9567	3073	43.43%	9492	-102	-173.13%
		6789	7.48%	12490	3268	20.19%	13610	11458	12.16%	14468	10316	7.15%	9567	3073	43.43%	9492	-102	-173.13%

Signifikanzniveau Student-t-Test (Nullhypothese: Mittel Verum=Mittel Kontrolle)

Zeit in min	p
0	entfällt
5	0.00027
15	0.00033
30	0.00041
60	0.00040
120	0.00040

Signifikanzniveau Student-t-Test (Nullhypothese: Mittel mit Ox.=Mittel ohne Ox.)

Zeit in min	p
0	entfällt
5	0.00000
15	0.00000
30	0.00000
60	0.00000
120	0.00000

Ox-OM 10µmol/l

Zeit in min		1. Versuch	2. Versuch	3. Versuch	4. Versuch	5. Versuch	6. Versuch
Leenwert		100%	100%	100%	100%	100%	100%
Kontrolle	0	100%	100%	100%	100%	100%	100%
	5	7%	6%	9%	9%	9%	9%
	5	1%	1%	2%	3%	1%	1%
-5	5	1%	1%	2%	2%	1%	1%
	5	1%	1%	2%	2%	1%	1%
	5	1%	1%	2%	2%	1%	1%
30	30	1%	1%	2%	2%	1%	1%
	30	1%	1%	2%	2%	1%	1%
	30	1%	1%	2%	2%	1%	1%
60	60	1%	1%	2%	2%	1%	1%
	60	1%	1%	2%	2%	1%	1%
	60	1%	1%	2%	2%	1%	1%
120	120	1%	1%	2%	2%	1%	1%
	120	1%	1%	2%	2%	1%	1%
	120	1%	1%	2%	2%	1%	1%

Oxamat 100mM

Zeit in min		1. Versuch	2. Versuch	3. Versuch	4. Versuch	5. Versuch	6. Versuch	Mittel	Streuung	VK
Leenwert		100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	0,000
Kontrolle	0	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	0,000
	5	69%	69%	76%	74%	58%	69%	71%	71%	4,34%
	-5	53%	57%	53%	52%	52%	46%	52%	52%	6,64%
-5	30	43%	42%	44%	44%	38%	38%	41%	41%	5,46%
	5	34%	32%	35%	33%	31%	25%	31%	31%	11,92%
	60	32%	27%	31%	27%	28%	25%	28%	28%	9,29%
30	120	32%	27%	31%	27%	28%	25%	28%	28%	9,29%
	30	32%	27%	31%	27%	28%	25%	28%	28%	9,29%
	60	32%	27%	31%	27%	28%	25%	28%	28%	9,29%
60	120	32%	27%	31%	27%	28%	25%	28%	28%	9,29%
	60	32%	27%	31%	27%	28%	25%	28%	28%	9,29%
	120	32%	27%	31%	27%	28%	25%	28%	28%	9,29%

Zeit in min	1. Versuch			2. Versuch			3. Versuch			4. Versuch			5. Versuch			6. Versuch		
	RLU	Mittel/VK	RLU-Leer	RLU	Mittel/VK	RLU-Leer	RLU	Mittel/VK	RLU-Leer	RLU	Mittel/VK	RLU-Leer	RLU	Mittel/VK	RLU-Leer	RLU	Mittel/VK	RLU-Leer
Leerwert	8531	902740	710595	8531	656089	465731	5596	425683	5506	515648	510140	501598	11549	375584	382847	11549	375584	382847
	811271	628000	677730	677730	669199	410078	404572	404572	508396	508396	502890	504572	382242	370683	370683	401380	375584	370683
5	671331	668245	712306	657088	628557	417377	412231	7.09%	497271	481765	1.85%	497271	384762	373213	373213	358793	373213	373213
	608637	600106	575810	607052	598521	413242	425736	427373	512103	506597	499406	415488	402933	402933	402933	357081	402933	402933
-5	804246	571715	530155	530155	522224	433330	427814	427814	480730	475224	4.31%	475224	409274	409274	342284	330735	409274	409274
	556808	556808	562608	6.80%	434075	428561	428561	0.34%	521902	516396	4.15%	419449	407900	407900	353026	341477	407900	407900
30	643639	537339	650374	643639	598531	456343	450837	452621	494559	489053	459808	377189	365640	372438	323067	311518	365640	372438
	661882	646954	638423	646954	638423	481710	443325	443325	481710	476204	3.88%	476204	377189	377189	314841	303292	377189	377189
120	655632	547101	2.52%	655632	646851	4.36%	646851	2.28%	419673	414167	1.63%	388810	377261	377261	311374	298825	377261	377261
	668301	559770	670185	600397	591566	481930	476424	471369	496615	481109	4.79%	412949	401300	401300	346513	334964	401300	401300
60	681539	673008	673008	626018	614787	466399	463803	478519	478519	473013	2.15%	391661	380112	380112	293221	281672	380112	380112
	686309	677778	1.39%	602116	594185	479337	473381	1.42%	479337	473381	1.27%	376575	365126	365126	293221	281672	365126	365126
120	718022	709491	669425	658698	650167	493639	507039	522590	517444	507666	3.76%	376423	364874	374525	311788	300239	364874	374525
	700750	692219	658698	658698	639670	509075	503669	509075	501280	485774	3.90%	390261	378712	378712	293769	282220	378712	378712
Leerwert	8531	902740	710595	8531	656089	465731	5596	425683	5506	515648	510140	501598	11549	375584	382847	11549	375584	382847
	811271	628000	677730	677730	669199	410078	404572	404572	508396	508396	502890	504572	382242	370683	370683	401380	375584	370683
5	671331	668245	712306	657088	628557	417377	412231	7.09%	497271	481765	1.85%	497271	384762	373213	373213	358793	373213	373213
	608637	600106	575810	607052	598521	413242	425736	427373	512103	506597	499406	415488	402933	402933	357081	402933	402933	
-5	804246	571715	530155	530155	522224	433330	427814	427814	480730	475224	4.31%	475224	409274	409274	342284	330735	409274	409274

[illegible]

MX1 Oxamat 100mmol/l

Zeit in min	1. Versuch RLU	2. Versuch RLU	3. Versuch RLU	4. Versuch RLU	5. Versuch RLU	6. Versuch RLU
Leerwert	8531	8531	5506	5506	11549	11549
Kontrolle						
5	811271 671331 674776	902740 662800 66245	670512 669199 637088	465731 404572 417737	382847 370693 373213	389831 355922 347471
-5	608637 580246 564139	600106 571715 571339	596521 522224 562808	491765 506597 475224	407038 403899 409274	35532 330735 341477
30	644389 676713 655632	636838 668182 847101	650374 634223 64851	627035 448831 443295	372438 37149 365640	353026 341518 304878
60	681539 685309 718022	670185 673008 577778	601079 463039 473881	461967 463039 473881	38810 365961 37149	334964 303292 311518
120	700750 615037	69425 606566	659300 680062	507039 523009	37623 378712	39350 282220
Leerwert	8531	8531	5506	5506	11549	11549
Oxamat 100mmol/l						
5	513451 497755 483328	489647 489224 474797	449916 319939 312020	363373 378200 373205	254437 252174 248278	261453 239161 243259
-5	299540 300316 340601	291009 291785 332070	319066 319919 315934	256078 253995 265699	213057 220325 220076	158128 151097 160137
30	317993 273949 266161	309462 265418 257630	265599 260421 281351	204279 197873 198316	138915 142479 145438	131260 119711 119647
60	224169 240172 247484	215638 231641 238953	193935 203225 189055	166433 160927 153372	108253 103411 111668	821316 821316 81412
120	221935 213404 211609	216458 216465 180316	176575 159031 153525	131673 140679 141561	103561 10357 99513	87072 77601 76594

Ergebnisse Oxamat 100mmol/l

Zeit in min	1. Versuch	2. Versuch	3. Versuch	4. Versuch	5. Versuch	6. Versuch
Leerwert	100%	100%	100%	100%	100%	100%
Kontrolle						
5	69%	69%	76%	74%	69%	69%
-5	53%	57%	53%	52%	46%	52%
30	43%	42%	38%	38%	39%	41%
60	34%	32%	35%	28%	25%	31%
120	32%	27%	31%	27%	25%	25%

Signifikanzniveau Student-t-Test (Nullhypothese: Mittel Verum=Mittel Kontrolle)

Zeit in min	p
0	entfällt
5	0,03627
15	0,00049
30	0,00133
60	0,00035
120	0,00067

B.4 Rohdaten der ATP-Messungen an S117-Zellen

S117 Chloracetaldehyd 20µmol/l

Zeit in min	1. Versuch RLU	Mittel/VK	2. Versuch RLU	RLU-Leer	3. Versuch RLU	RLU-Leer	Mittel/VK	4. Versuch RLU	RLU-Leer	Mittel/VK	5. Versuch RLU	RLU-Leer	Mittel/VK	6. Versuch RLU	RLU-Leer	Mittel/VK
Leerwert	16665		37252		37252		7839		7839		7839		1182		1182	
Kontrolle	5	1927215	1910550	1904614	2269018	225766	2463201	367235	250253	2616362	260735	2652886	2688535	2391411	2390229	2412839
		1920907	1904242		2604919	2603667		2673911	2636559		2685903	2677764		2472363	2471181	
		1915716	1899051	0,30%	2571423	2534171	7,57%	2669425	2632173	1,20%	2742784	2734045	1,56%	2378289	2377107	2,11%
		2079370	2062705	1816516	2159218	2157966	2377302	2742607	2705355	2724071	2700314	2693075	2707566	2702779	2701597	2752151
	-5	1809845	1793180	2406667	2443415	2437976	2797724	2394547	2386708	2710396	2710396	2703157	2786177	2764995		
		1810327	1593662	12,96%	2530524	8,20%	2706387	2669135	2,43%	2379053	2371214	2,68%	2771043	2759861	1,61%	
		2114337	2097672	2099608	2466127	2458875	2431370	2674845	2637593	2695733	2602589	2594750	2588403	2819004	2816822	2849687
	30	2092754	2076089	2461049	2453797	2727055	2699903	2652190	2644351	2,27%	2793994	2785555		2859852	2857670	
		2141727	2125062	1,17%	2418689	2381437	1,78%	2797055	2759903	2,27%	2699617	2691778	2,11%	2875751	2874569	1,04%
		2167134	2170469	2223903	2736997	2747445	2481843	2812971	275719	2812376	2850397	2850558	2783434	3060513	3069331	3009975
	60	2277305	2260640	2636212	2596960	2636128	2680530	2405881	2396042	1,49%	2796890	2790651	2,56%	3062334	3061152	
		2257268	2240601	2,13%	2411376	2374124	4,54%	2840532	2803280		2716733	2708694		2880625	2879443	3,79%
		2369596	2249271	2311773	2550039	2552787	2525822	2764572	2727320	2722913	1933795	2698690	2748754	3069618	3068436	3151822
	120	2281683	2265018	2561725	2544473	2826992	2789710	2528215	2518376		2706519	2698690		3188489	3187307	
		2337695	2321030	1,85%	2517459	2480207	1,57%	2688952	2651710	2,54%	2806746	2798907	2,58%	3230905	3229723	2,64%
Leerwert	16665		37252		37252		7839		7839		7839		1182		1182	
CAA 20µmol/l	5	1931235	1914570	1885912	2543515	2506263	2473848	2651032	2613750	2662437	2716780	2708941	2775554	2677804	2676622	2555541
		1902965	1886300		2474502	2437250		2683282	2646030		2814051	2806212		2490293	2489111	
		1903531	1886866	0,85%	2514684	2477432	1,40%	2455974	2448135	1,63%	2819438	2811599	2,08%	2502073	2500891	4,11%
		2049839	2033174	2063925	2539841	2502589	2510030	2603279	2566027	2578249	2665852	2658013	2685045	2713511	2712329	2659679
	-5	2080010	2063345		2528758	249506		2632289	2595037		2679283	2671444		2608794	2607612	
		2111920	2095255	1,50%	2573246	2535994	0,92%	2621034	2573682	0,58%	2733518	2725679	1,33%	2690278	2689066	2,06%
		2124522	2107857	2149274	1674242	1636990	1640820	2799540	2762288	2697369	2831236	2823397	2861655	2974961	2973779	2991849
	30	2126517	2108852		1661901	1644649		2671398	2634146		2863858	2856019		2932491	2931309	
		2246778	2230113	3,26%	2311137		0,33%	2732926	2695674	2,38%	2913478	2905639	1,45%	3071640	3070458	2,38%
		2211338	2194671	2200694	2400861	2443609	2483911	2720967	2683715	2635973	2659591	2688152	2666451	2891911	2890729	2849813
	60	2246337	2229672		2503288	2466036		2672007	2576883		2612389	2605150		2839106	2837924	
		2194403	2177758	1,20%	2579339	2542087	2,08%	2694574	2647922	2,06%	2713890	2706051	2,02%	2822268	2821086	1,28%
		2216916	2200251	2233182	2316787	2279535	2205287	2607130	2499969	2569258	2651024	2643185	2712367	2992240	2991098	3031472
	120	2263047	2246382		2167493	2120241		2664802	2627550		2831539	2824000		3065445	3064263	
		2269578	2252913	1,29%	2253538	2216086	3,64%	2617639	2580357	3,16%	2678716	2669977	3,60%	3040276	3039094	1,23%

Ergebnisse CAA 20µmol/l Signifikanzniveau Student-t-Test (Nullhypothese: Mittel Verum=Mittel Kontrolle)

Zeit in min	1. Versuch	2. Versuch	3. Versuch	4. Versuch	5. Versuch	6. Versuch	Mittel	StqAbw	VK
0	100%	100%	100%	100%	100%	100%	0,000	0,000	0,00%
5	100%	100%	102%	101%	103%	106%	0,023	0,023	2,28%
-5	114%	106%	95%	100%	99%	97%	0,069	0,069	6,77%
30	102%	67%	100%	100%	104%	105%	96%	0,143	14,85%
60	99%	100%	99%	96%	99%	96%	0,027	2,77%	
120	97%	87%	100%	94%	99%	96%	0,046	4,78%	

Zeit in min	p
0	entfällt
5	0,38742
15	0,4906
30	0,36716
60	0,30482
120	0,26161

S117 Chloracetaldehyd 100µmol/l

Zeit in min	1. Versuch RLU	Mittel/VK	2. Versuch RLU	RLU-Leer	3. Versuch RLU	Mittel/VK	4. Versuch RLU	RLU-Leer	5. Versuch RLU	Mittel/VK	6. Versuch RLU	Mittel/VK
Leerwert	16665		37252		37232		7839		7839		1182	
Kontrolle	5	1927215	1910550	1904614	2269018	225766	2463201	2617505	250253	2616362	260735	2652886
		1920971	1904242	1860919	2603667	2632171	2636559	2493875	2486036	2677764	2472363	2471181
		1915716	1899051	2571423	2534171	7.57%	2669425	2632173	2632173	2742784	2378289	2377107
		2079370	2062705	2155218	2157966	2377302	2742607	2705355	2742071	2743045	2702779	2701597
		1809845	1793180	2406667	2443415	2793724	2834976	2793724	2710396	2693075	2761771	2764995
		1810327	1593662	2530524	8.20%	2706387	2669135	2.43%	2379053	2371214	2771043	2759861
		2114337	2097672	2099608	2468127	2458875	2431370	2637569	2602589	2768714	2758662	2819004
		2092754	2076089	2461049	2463797	2727055	2689903	2659190	2644351	2785655	2859852	2857670
		2141727	2125062	2418689	2381437	1.78%	2797035	2759903	2699617	2691778	2875751	2874569
		2167134	2170469	2223903	2472445	2481843	2812971	275719	2812376	2785058	3060513	3009975
		2277305	2260640	2636212	2596960	2688128	2685590	2688128	2796890	2790681	3062334	3091152
		2257266	2240601	2411376	2374124	4.54%	2840532	2606567	2716733	2708694	2880625	2879443
		2365936	2249271	2311773	2550039	2557787	2525822	2727320	1933795	2748754	3069618	3068436
		2281683	2265018	2561725	2544473		2826952	2789710	2706519	2698690	3188489	3187307
		2337695	2321030	2517459	2480207	1.57%	2688952	2651710	2806746	2798907	3230905	3229723
Leerwert		16665		37252		37232		7839		7839		1182
CAA 100µmol/l		1435726	1419061	1639275	2456763	2469642	2668336	2631104	2620221	2620221	2804619	2796780
		1847678	1831013	2468957	2589078	2521825	2484723	2476884	2821154	2821154	2598839	2597657
		1684417	1667752	2520457	2483205	0.54%	2744934	2707732	2859427	2851988	2632617	2631435
		2022957	2006292	2027162	2576316	2522076	2624317	2587065	2733532	2725693	2761289	2760107
		1990093	1973428	2490999	2528251	2490999	2653046	2492922	2667862	2659823	2719388	2718206
		2118431	2101766	2498914	1.87%	2699871	2662619	1.56%	2799136	2781297	2803946	2802764
		2097779	2081114	2120070	2323397	2401538	2756731	2719479	2744217	2766378	2848131	2846949
		2126899	2110234	2444074	2406822	2690651	2653599	2653599	2740337	2732498	2927381	2926199
		2185528	2168863	211647	2474395	3.15%	2738430	2701198	2860398	2852559	2920712	2919530
		2150838	2134173	2103245	2574321	2520450	2651644	2614392	2566332	2578793	2990762	2989580
		2136016	2119351	2565578	2468306	2683857	2646615	2747217	2624572	2616833	2964739	2963557
		2072877	2056212	1.97%	2559276	2518724	210%	2745825	2708623	2658105	2936689	2935507
		2138862	2120197	2161796	244596	2377344	2361926	2558199	2735726	2727897	3011049	3009867
		2232608	2215943	2371393	2334141		2617129	2579877	2636573	2628734	2893068	2891886
		2165913	2149248	227%	2411544	2374292	1.02%	2565785	2526533	2526533	2861536	2864976

Signifikanzniveau Student-t-Test (Nullhypothese: Mittel Verum=Mittel Kontrolle)

Zeit in min	p
0	entfällt
5	0.45937
15	0.36580
30	0.49772
60	0.52295
120	0.22219

Ergebnisse	CAA 100µmol/l	1. Versuch	2. Versuch	3. Versuch	4. Versuch	5. Versuch	6. Versuch	Mittel	StdAbw	VK
Zeit in min		100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	0.00	0.00%
0		100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	0.079	7.90%
5	86%	100%	101%	105%	110%	100%	100%	100%	0.079	7.90%
15	112%	106%	97%	104%	101%	100%	100%	100%	0.052	5.08%
30	101%	99%	100%	100%	101%	102%	100%	100%	0.016	1.58%
60	95%	102%	94%	98%	94%	98%	98%	98%	0.038	3.86%
120	94%	94%	93%	96%	96%	95%	93%	93%	0.032	3.35%

S117 Chloracetaldehyd 500µmol/l

Zeit in min	1. Versuch RLU	Mittel/VK	2. Versuch RLU	RLU-Leer	Mittel/VK	3. Versuch RLU	RLU-Leer	Mittel/VK	4. Versuch RLU	RLU-Leer	Mittel/VK	5. Versuch RLU	RLU-Leer	Mittel/VK	6. Versuch RLU	RLU-Leer	Mittel/VK
Leerwert	16665		37252		37252		7839		7839		260735		260735		1182		
Kontrolle	1927215	1910550	1904614	2269018	225766	2463201	2677505	250253	2616362	2563332	2462359	260735	2652886	2688535	2391411	2390229	2412839
5	1920917	1904242		2640919	2603667		2673911	2636659		2493875	2486036	2685903	2677764	2677764	2472363	2471181	
	1915716	1899051	0,30%	2571423	2534171	7,57%	2669425	2632173	1,20%	2345547	2337708	2742784	2734045	2734045	2378289	2377107	2,11%
	2079370	2062705	1816516	2159218	2159966	2377302	2742607	2705355	2724071	2980051	2980051	2700314	2693075	2707566	2702779	2701597	2752151
-5	1809845	1793180		2406667	2443415		2834976	2797124		2394547	2386708	2710396	2726465	2726465	2786177	2784995	
	1810327	1593662	12,96%	2567776	2530524	8,20%	2706387	2669135	2,43%	2379053	2371214	2685	2734304	2726465	2771043	2759861	1,61%
	2114337	2097672	2099608	2466122	2458875	2431370	2674845	2637593	2695733	2602589	2594750	2680553	2768714	2758662	2819004	2816822	2849687
30	2092754	2076089		2461049	2453797		2727055	2699903		2659190	2644351	2793394	2785555	2785555	2859852	2857670	
	2141727	2125062	1,17%	2418689	2381437	1,78%	2797055	2759903	2,27%	2533948	2525109	2699517	2691778	2691778	2875751	2874569	1,04%
	2167134	2170469	2223903	2477445	2481843		2812971	275719	2812376	2449400	2436042	2656397	2650558	2783434	306513	3059331	3009975
60	2277305	2260640		2636212	2596960		2895390	2868128		2405881	2396042	2796990	2790651	2780684	3062334	3061152	
	2257266	2240601	2,13%	2411376	2374124	4,54%	2840532	2803280	1,49%	2316506	2306567	2716733	2708694	2708694	2880625	2879443	3,79%
	2365936	2349271	2311773	2550039	2557787	2525822	2764572	2727320	2722913	2483664	2475825	1933795	2364787	2364787	3069618	3068436	3151822
120	2281683	2265018		2561725	2544473		2826992	2789710		2526215	2518376	2706519	2698690	2748754	3188489	3187307	
	2337695	2321030	1,85%	2517459	2480207	1,57%	2688952	2651710	2,54%	2826215	2810059	2806746	2798907	2798907	3230905	3229723	2,64%
Leerwert	16665		37252		37252		7839		7839		260735		260735		1182		
CAA 500µmol/l	1696694	1680029	1939929	2546077	2508825	2505047	2626924	2589672	2654428	2570313	2562474	2555116	2777040	2776956	2629267	2628085	2802925
30	2145592	2128927		2373925	2336673	2362616	2670601	2633349	2634964	2865544	2877705	2627342	2619503	2627342	2862105	2860923	
	2211261	2194596	2,90%	2425810	2388558	1,55%	2721595	2684343	1,84%	2533008	2525169	2942283	2934444	2934444	2920950	2919768	5,50%
	1760322	1743657	1914325	2451049	2413797	2365116	2571792	2480720	2521168	2229990	2222151	2294765	2746723	2711129	2933002	2931820	2838915
60	1884086	1867421		2407112	2369860		2589474	2552222		2318556	2310717	2685230	2677391	2677391	2912974	2911792	
	2148562	2131897	10,36%	2348942	231690	2,17%	2567814	2550562	1,45%	2059267	2351428	2885	2717113	2709274	2854314	2853132	1,41%
	1564390	1547715	1543973	1921272	1880920	1920157	1917975	1890723	1821621	1971965	1864126	2009075	2073036	2115057	1998911	1997729	1854959
120	1533057	1516392		2001126	1963874		1886374	1849122		1959484	1951645	2091022	2083183	2083183	1802646	1801464	
	1584477	1567812	1,68%	1949629	1912577	2,11%	1772270	1735015	4,21%	2024022	2016163	2196792	2186853	2186853	1866866	1865884	2,64%

Signifikanzniveau Student-t-Test (Nullhypothese: Mittel Verum=Mittel Kontrolle)

Zeit in min	p
0	0
5	0,36637
-5	15
30	0,36088
60	0,43287
120	60
	0,19910
	120
	0,00038

Zeit in min	1. Versuch	2. Versuch	3. Versuch	4. Versuch	5. Versuch	6. Versuch	Mittel	StdAbw	VK
0	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	0,00	0,00%
5	102%	102%	101%	103%	103%	104%	102%	0,009	0,80%
-5	111%	106%	100%	103%	103%	103%	102%	0,046	4,44%
30	102%	97%	98%	99%	99%	96%	96%	0,017	1,72%
60	86%	95%	96%	96%	97%	96%	94%	0,046	4,89%
120	67%	76%	67%	67%	77%	59%	71%	0,086	12,11%

S117 Fluoracetat 500µmol/l

Zeit in min	1. Versuch RLU	RLU-Leer	Mittel/VK	2. Versuch RLU	RLU-Leer	Mittel/VK	3. Versuch RLU	RLU-Leer	Mittel/VK	4. Versuch RLU	RLU-Leer	Mittel/VK	5. Versuch RLU	RLU-Leer	Mittel/VK	6. Versuch RLU	RLU-Leer	Mittel/VK
Leerwert	6188			6188			13032			13032			13899			13899		
Kontrolle	1843598	1837410	1809573	2175922	2169734	1972204	2308133	2295131	2238933	2215203	2202171	2217146	2559886	2546187	2489367	2712546	2698847	2673843
5	1771982	1765764	1920764	1914576	1832302	8,92%	2269046	2256014	2,97%	2229634	2216602	0,89%	2457773	2444074	2,09%	2646699	2633000	1,33%
-5	1831733	1825545	2,12%	1838490	1832032	8,92%	2217685	2165653	2,97%	2245697	2232665	0,89%	2491538	2477839	2,09%	2703382	2669683	1,33%
	1627484	1621306	1709160	1841277	1835089	1924801	2246494	2233462	2220544	2438013	2424981	2235157	2555906	2541807	2512555	2801426	277727	2800132
	1759848	1753660	1951021	1944833	1948333	2325414	2333462	2220544	2348013	2424981	2235157	2555906	2541807	2512555	2801426	2767727	2800132	
10	1758701	1752513	4,45%	2008668	1994480	4,24%	2128821	2115789	4,46%	2061964	2056939	8,41%	2346430	2450081	2,23%	2770913	2757214	1,80%
	1572902	1566096	1581468	1768500	1792312	1749222	2716737	2263755	2174572	2269681	2256642	2185107	2394813	2381114	2434751	2861817	2848118	2805964
	30	1470836	1464648	1655267	1649079	1802774	2171348	2134111	3,56%	2156387	2143355	2,82%	2440366	2430337	2,30%	2747073	2733374	2,25%
60	1719890	1713662	7,92%	1812462	1806274	4,97%	2138883	2125851	3,56%	2156387	2143355	2,82%	2440366	2430337	2,30%	2850098	2836399	2,25%
	1717592	1709764	1765921	2059747	2093559	2046064	2451083	2438051	2247693	2377820	2364788	2403306	2672614	2658915	260816	2942235	2928536	2954843
	1796263	1790075	1912788	1906600	2097447	2093859	2187354	2174332	2417586	2404554	2549528	2558929	2947825	2934126	2904126	3015538	3001839	1,38%
120	1804111	1797923	2,76%	2144221	2138033	6,00%	2143727	2130695	7,40%	2453609	2440577	1,58%	2643273	2629574	2,47%	3015538	3001839	1,38%
	1632386	1626178	1632633	2114091	2107903	1961221	2522073	2509041	2491264	2505104	2492072	2488411	2743227	2729528	2635703	2937317	29433618	2997932
	1581194	1575006	1904259	1898071	2533151	2520119	2533151	2520119	2486968	2473936	2,48%	2542365	2528666	2,52%	3052731	30433618	2937317	29433618
Leerwert	6188			6188			13032			13032			13899			13899		
FAC 500µmol/l	1731893	1725705	1696919	2062349	2056161	2007412	2285911	2272879	2270050	2117711	2104679	2198333	2454173	2440474	2412422	2675786	2662087	2633055
5	1842370	1836182	2025832	2028644	2028644	3,13%	2336978	2323946	2,44%	2244285	2231233	3,65%	2407248	2393549	1,03%	2657459	2643760	0,74%
-5	1535058	1528870	9,17%	1942620	1936432	2028644	2226317	2213325	2,44%	2266119	2253087	3,65%	2416941	2403242	1,03%	2697017	2683318	0,74%
	1644409	1638221	1604643	2028620	2022632	2029714	2162115	2149083	2247295	2168371	2155339	2193166	2381105	2367406	2369666	2618562	2604863	2655530
	1505225	1499037	1951191	1945003	2328411	2341443	2328411	2341443	2267137	2254105	2394701	2381002	2394701	2381002	2713596	2698897	3,29%	
30	1682859	1676671	5,82%	2127696	212508	4,36%	2271424	2264392	4,04%	2183086	2170054	2,43%	2374109	2360410	0,44%	2795528	2781829	3,29%
	1429871	1423683	1525033	2182724	2176536	2014547	2201477	2188445	2190821	2128055	2115023	2201473	2632397	2619238	2566462	2705794	2692085	2750678
	1474975	1468787	185795	1949607	1949607	2122141	2135173	2122141	2135173	2283073	2270041	2423394	2409595	2632397	2619238	2566462	2806049	2792350
60	1688818	1682630	9,07%	2023687	2017499	8,12%	2274908	2261876	3,19%	2232388	2219356	3,59%	2684342	2670643	5,39%	2781288	2767589	1,90%
	1927157	1920969	1787957	2042530	2036342	2129889	2219908	2206874	2185203	2409747	2396715	2359728	2616328	2602829	2431965	2764922	2751223	2828210
	1742089	1735881	2038227	2033639	2237387	2224335	2237387	2224335	2396867	2383835	2,26%	2440550	2426851	2,26%	2816750	2803051	3,26%	
120	1713210	1707022	6,49%	2326173	2319885	7,73%	2137431	2124399	2,44%	2311666	2298634	2,26%	2279914	2266215	6,92%	2944056	2930357	3,26%
	1814514	1808326	1695610	2100496	2094308	1972186	2338394	2325362	2411848	2448297	2438265	2442520	2522874	2509175	2589368	2842072	2828373	2850582
	1714591	1708403	1968822	1967634	2439125	2426093	2439125	2426093	2419711	2406679	2,48%	2750645	2736846	2,48%	2864854	2851156	3,26%	
1746288	1740100	4,08%	1835804	1839616	5,96%	2497121	2484089	3,33%	2596649	2485671	1,64%	2532942	2519143	4,97%	2915918	2902219	1,32%	

Signifikanzniveau Student-t-Test (Nullhypothese: Mittel Verum=Mittel Kontrolle)

Zeit in min	p
0	entfällt
5	0,4680
15	0,42185
30	0,41947
60	0,41252
120	0,44244

Ergebnisse	FAC 500µmol/l	1. Versuch	2. Versuch	3. Versuch	4. Versuch	5. Versuch	6. Versuch	Mittel	StdAbw	VK
Zeit in min										
0	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	0,00	0,00%
5	94%	102%	101%	99%	97%	96%	96%	0,030	3,04%	3,04%
-5	94%	105%	101%	98%	94%	96%	96%	0,045	4,55%	4,55%
30	96%	115%	101%	101%	105%	98%	98%	0,069	6,63%	6,63%
60	101%	104%	97%	98%	93%	96%	96%	0,039	3,96%	3,96%
120	103%	101%	97%	98%	98%	96%	96%	0,027	2,75%	2,75%

S117 Oligomycin 50µmol/l

Zeit in min		1. Versuch	2. Versuch	3. Versuch	4. Versuch	5. Versuch	6. Versuch	Mittel/VK		
Leerwert		RLU	RLU-Leer	Mittel/VK	RLU-Leer	RLU-Leer	RLU-Leer	RLU-Leer	Mittel/VK	
5	Kontrolle	1474	1474	13032	13032	13899	13899	13899		
		3388234	3412773	3335425	3359207	2308153	2295131	2238933	2712546	
		3408811		3352515		2269046	2256014		2489367	
		3442747	0.78%	3353989	0.83%	2264644	2233462	2220544	2444074	
		3010652	3203836	3148587	3077061	2246933	2236653	2220544	2457773	
-5		3281985	3301178	311825	3110351	2325414	2312382	2305414	2491538	
		3281985	3301178	311825	3110351	2325414	2312382	2305414	2491538	
		3232392	3321818	2975193	2973719	2128821	2115789	2061964	2059454	
		3323959		2973719	2973719	2128821	2115789	2061964	2059454	
		3370434	3368960	3299970	3203489	2716737	2696691	2686830	2770913	
30		3270245	3270245	2716737	2716737	2174572	2174572	2174572	2174572	
		3270245	3270245	2716737	2716737	2174572	2174572	2174572	2174572	
		3320524	3323550	2722415	2720641	2722415	2720641	2722415	2720641	
		3308873	3307399	3225322	3215371	2368383	2368383	2368383	2368383	
		3326845	3325371	2973402	2971928	2167394	2163322	2167394	2381141	
60		3302849	3301375	310789	3107315	2450824	2449528	2450824	2450824	
		3350694	3349220	260232	258758	2167394	2163322	2167394	2381141	
		3518528	3517054	3553402	3391231	2522073	2520041	2491264	2488411	
		3600488	3599014	3412500	3409114	2533151	2520119	2520119	2635703	
		3545613	3544139	3418889	3418889	2457655	2444633	2444633	2528666	
Leerwert		1474	1474	13032	13032	13899	13899	13699		
Oligom. 50µmol/l		3286575	3285101	3345969	3344624	3343150	3317060	3223823	2441701	
5		3334873	3333399	3271104	3269630	2237905	2224873	2223823	2441701	
		3420881	3419407	2.03%	3339873	3338399	2204935	2191903	2191903	2441701
		3292941	3291467	3282968	3061067	3079593	2209803	2196771	2167559	2436519
		3262379	3260905		3065764	3094290	2202406	2189374	2189374	2410977
		3298006	3296532	0.59%	3269946	3288472	2129535	2116533	2116533	2424676
30		3395511	3394037	3406556	3227472	3225998	2189931	2176899	216072	2325019
		3475424	3473950		3203744	3202270	2074970	2061939	2061939	2325019
		3353161	3351687	1.82%	3069979	3068505	2122411	2109379	2109379	2325019
		3192443	3190969	3193204	3138532	3137058	2126877	2113845	2113845	2445028
		3125127	3123653		3124342	3122868	2094285	2081253	2081253	2445028
60		3268465	3266991	2.21%	3111381	3109907	2272976	2259944	2259944	2552522
		3448494	3447020	3462341	3262220	3260746	2246055	2233023	2233023	2552522
		3465788	3464314		3245239	3243825	2214679	2201377	2201377	2641011
		3477164	3475690	0.42%	3301744	3300270	2103294	2090232	2090232	2691590
										2691590
Leerwert		1474	1474	13032	13032	13899	13899	13699		
Oligom. 50µmol/l		3286575	3285101	3345969	3344624	3343150	3317060	3223823	2441701	
5		3334873	3333399		3271104	3269630	2237905	2224873	2223823	2441701
		3420881	3419407	2.03%	3339873	3338399	2204935	2191903	2191903	2441701
		3292941	3291467	3282968	3061067	3079593	2209803	2196771	2167559	2436519
		3262379	3260905		3065764	3094290	2202406	2189374	2189374	2410977
		3298006	3296532	0.59%	3269946	3288472	2129535	2116533	2116533	2424676
30		3395511	3394037	3406556	3227472	3225998	2189931	2176899	216072	2325019
		3475424	3473950		3203744	3202270	2074970	2061939	2061939	2325019
		3353161	3351687	1.82%	3069979	3068505	2122411	2109379	2109379	2325019
		3192443	3190969	3193204	3138532	3137058	2126877	2113845	2113845	2445028
		3125127	3123653		3124342	3122868	2094285	2081253	2081253	2445028
60		3268465	3266991	2.21%	3111381	3109907	2272976	2259944	2259944	2552522
		3448494	3447020	3462341	3262220	3260746	2246055	2233023	2233023	2552522
		3465788	3464314		3245239	3243825	2214679	2201377	2201377	2641011
		3477164	3475690	0.42%	3301744	3300270	2103294	2090232	2090232	2691590
										2691590
Leerwert		1474	1474	13032	13032	13899	13899	13699		
Oligom. 50µmol/l		3286575	3285101	3345969	3344624	3343150	3317060	3223823	2441701	
5		3334873	3333399		3271104	3269630	2237905	2224873	2223823	2441701
		3420881	3419407	2.03%	3339873	3338399	2204935	2191903	2191903	2441701
		3292941	3291467	3282968	3061067	3079593	2209803	2196771	2167559	2436519
		3262379	3260905		3065764	3094290	2202406	2189374	2189374	2410977
		3298006	3296532	0.59%	3269946	3288472	2129535	2116533	2116533	2424676
30		3395511	3394037	3406556	3227472	3225998	2189931	2176899	216072	2325019
		3475424	3473950		3203744	3202270	2074970	2061939	2061939	2325019
		3353161	3351687	1.82%	3069979	3068505	2122411	2109379	2109379	2325019
		3192443	3190969	3193204	3138532	3137058	2126877	2113845	2113845	2445028
		3125127	3123653		3124342	3122868	2094285	2081253	2081253	2445028
60		3268465	3266991	2.21%	3111381	3109907	2272976	2259944	2259944	2552522
		3448494	3447020	3462341	3262220	3260746	2246055	2233023	2233023	2552522
		3465788	3464314		3245239	3243825	2214679	2201377	2201377	2641011
		3477164	3475690	0.42%	3301744	3300270	2103294	2090232	2090232	2691590
										2691590
Leerwert		1474	1474	13032	13032	13899	13899	13699		
Oligom. 50µmol/l		3286575	3285101	3345969	3344624	3343150	3317060	3223823	2441701	
5		3334873	3333399		3271104	3269630	2237905	2224873	2223823	2441701
		3420881	3419407	2.03%	3339873	3338399	2204935	2191903	2191903	2441701
		3292941	3291467	3282968	3061067	3079593	2209803	2196771	2167559	2436519
		3262379	3260905		3065764	3094290	2202406	2189374	2189374	2410977
		3298006	3296532	0.59%	3269946	3288472	2129535	2116533	2116533	2424676
30		3395511	3394037	3406556	3227472	3225998	2189931	2176899	216072	2325019
		3475424	3473950		3203744	3202270	2074970	2061939	2061939	2325019
		3353161	3351687	1.82%	3069979	3068505	2122411	2109379	2109379	2325019
		3192443	3190969	3193204	3138532	3137058	2126877	2113845	2113845	2445028
		3125127	3123653		3124342	3122868	2094285	2081253	2081253	2445028
60		3268465	3266991	2.21%	3111381	3109907	2272976	2259944	2259944	2552522
		3448494	3447020	3462341	3262220	3260746	2246055	2233023	2233023	2552522
		3465788	3464314		3245239	3243825	2214679	2201377	2201377	2641011
		3477164	3475690	0.42%	3301744	3300270	2103294	2090232	2090232	2691590
										2691590
Leerwert		1474	1474	13032	13032	13899	13899	13699		
Oligom. 50µmol/l		3286575	3285101	3345969	3344624	3343150	3317060	3223823	2441701	
5		3334873	3333399		3271104	3269630	2237905	2224873	2223823	2441701
		3420881	3419407	2.03%	3339873	3338399	2204935	2191903	2191903	2441701
		3292941	3291467	3282968	3061067	3079593	2209803	2196771	2167559	2436519
		3262379	3260905		3065764	3094290	2202406	2189374	2189374	2410977
		3298006	3296532	0.59%	3269946	3288472	2129535	2116533	2116533	2424676
30		3395511	3394037	3406556	3227472	3225998	2189931	2176899	216072	2325019
		3475424	3473950		3203744	3202270	2074970	2061939	2061939	2325019
		3353161	3351687	1.82%	3069979	3068505	2122411	2109379	2109379	2325019
		3192443	3190969	3193204	3138532	3137058	2126877	2113845	2113845	2445028
		3125127	3123653		3124342	3122868	2094285	2081253	2081253	2445028
60		3268465	3266991	2.21%	3111381	3109907	2272976	2259944	2259944	2552522
		3448494	3447020	3462341	3262220	3260746	2246055	2233023	2233023	2552522
		3465788	3464314		3245239	3243825	2214679	2201377	2201377	2641011
		3477164	3475690	0.42%	3301744	3300270	2103294	2090232	2090232	2691590
										2691590
Leerwert		1474	1474	13032	13032	13899	13899	13699		
Oligom. 50µmol/l		3286575	3285101	3345969	3344624	3343150	3317060	3223823	2441701	
5		3334873	3333399		3271104	3269630	2237905	2224873	2223823	2441701
		3420881	3419407	2.03%	3339873	3338399	2204935	2191903	2191903	2441701
		3292941	3291467	3282968	3061067	3079593	2209803	2196771	2167559	2436519
		3262379	3260905		3065764	3094290	2202406	2189374	2189374	2410977
		3298006	3296532	0.59%	3269946	3288472	2129535	2116533	2116533	2424

S117 Oxamat 100mmol/l + Chloracetaldehyd 20µmol/l

Zeit in min	1. Versuch RLU	2. Versuch RLU	3. Versuch RLU	4. Versuch RLU	5. Versuch RLU	6. Versuch RLU
Leerwert	4390	4390	62791	62791	51178	51178
Kontrolle	2515936 2703559 2424250 2592604 2477216 2523394 2683091 2664188 2616855 2551786 2623344 2651403 2876585	2511566 2699169 2419860 2568214 2477286 2519004 2676527 2659778 2864687 2679763 2547376 2647013 2872195	2543532 2759695 2830827 2636991 3112041 3020772 2932383 2750336 3198651 2840800 2879333 3178365 303202	2543532 2759695 2830827 2636991 3112041 3020772 2932383 2750336 3198651 2840800 2879333 3178365 303202	2543532 2759695 2830827 2636991 3112041 3020772 2932383 2750336 3198651 2840800 2879333 3178365 303202	2543532 2759695 2830827 2636991 3112041 3020772 2932383 2750336 3198651 2840800 2879333 3178365 303202
Leerwert	4390	4390	62791	62791	51178	51178
Ox+CAA 20µmol/l	1767156 1711604 1566301 1367229 1460323 1400216 1439819 1513874 1439482 1166789 1111410 1235102 1132931 1104022 1112255	1762766 1707214 1860947 1561911 1362839 1464643 1395826 1435429 1509484 1435072 1162399 1107020 1230712 1128441 1096632 1078655	1677297 1707214 1860947 1561911 1362839 1464643 1395826 1435429 1509484 1435072 1162399 1107020 1230712 1128441 1096632 1078655	1677297 1707214 1860947 1561911 1362839 1464643 1395826 1435429 1509484 1435072 1162399 1107020 1230712 1128441 1096632 1078655	1677297 1707214 1860947 1561911 1362839 1464643 1395826 1435429 1509484 1435072 1162399 1107020 1230712 1128441 1096632 1078655	1677297 1707214 1860947 1561911 1362839 1464643 1395826 1435429 1509484 1435072 1162399 1107020 1230712 1128441 1096632 1078655

Ergebnisse Ox+CAA 20µmol/l

Zeit in min	1. Versuch	2. Versuch	3. Versuch	4. Versuch	5. Versuch	6. Versuch	Mittel	StGAbw	VK
0	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	0,000	0,00%
5	66%	69%	39%	43%	52%	49%	53%	0,121	22,89%
15	56%	58%	41%	42%	41%	48%	46%	0,076	15,98%
30	53%	49%	38%	37%	42%	40%	43%	0,065	15,00%
60	44%	42%	31%	29%	32%	31%	35%	0,064	18,46%
120	41%	40%	26%	28%	28%	31%	28%	0,066	20,30%

Ergebnisse Oxamat100mM

Zeit in min	1. Versuch	2. Versuch	3. Versuch	4. Versuch	5. Versuch	6. Versuch	Mittel	StGAbw	VK
0	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	0,000	0,00%
5	72%	71%	63%	68%	78%	70%	70%	0,050	7,15%
15	64%	64%	54%	55%	57%	61%	58%	0,043	7,30%
30	62%	56%	52%	54%	54%	54%	54%	0,034	6,09%
60	44%	48%	44%	45%	47%	46%	46%	0,021	4,45%
120	40%	41%	41%	41%	47%	44%	42%	0,025	5,87%

Signifikanzniveau Student-t-Test (Nullhypothese: Mittel Verum=Mittel Kontrolle)

Zeit in min	IC
0	entfällt
5	0,00010
15	0,00001
30	0,00000
60	0,00000
120	0,00000

Signifikanzniveau Student-t-Test (Nullhypothese: Mittel mit Ox.=Mittel ohne Ox.)

Zeit in min	IC
0	entfällt
5	0,01503
15	0,01373
30	0,0404
60	0,0571
120	0,01246

S117 Oxamat 100mmol/l + Chloracetaldehyd 100µmol/l

Zeit in min	1. Versuch RLU	2. Versuch RLU	Mittel/VK	3. Versuch RLU	4. Versuch RLU	5. Versuch RLU	6. Versuch RLU	Mittel/VK	RLU-Leer	Mittel/VK	RLU-Leer	RLU-Leer	RLU-Leer	Mittel/VK	RLU-Leer	Mittel/VK	RLU-Leer																																																						
Leerwert	4390	4390	62791	62791	62791	62791	62791	62791	2360094	2360094	2360094	2360094	2360094	2360094	2360094	2360094	2360094																																																						
Kontrolle	2515936 2703559 2424250 2592604 2477216 2523394 2680917 2664188 2816855 2551786 2623344 2651403 2876585	2515566 2699169 2419860 2568214 2472826 2519004 2676597 2659778 2814265 2679763 2879333 2678954 2876585	2543532 2799395 5.60% 2526681 2.30% 2774264 6.63% 2680468 4.98% 2712721 3003202 3232678	2887981 2795305 4.66% 2934445 7.69% 2952023 8.04% 2921805 3.74% 3133692 2998812 3228288	2297303 2193552 2117733 2100263 183275 2155090 2227848 2178128 2456131 2245387 2274378 2478994 2352174	2292863 2193552 4.09% 2046208 7.02% 2231282 11.01% 2328498 5.12% 2446174 2633829 2852402	2764017 3.04% 2630753 7.41% 2510944 8.86% 2566117 1.60% 2752853 2801224 3282957	3024232 2947061 2859482 2718347 2674927 2789316 2779159 2928940 2926312 2984402 3142201 3066628 3231779	2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017	2848336 2763277 2690438 2494915 2405764 2737081 2250837 2265269 2607447 2718805 2657927 2633735 2647477 2596299 2570672 2519494 2692069 2862052 2801224 2783432	2848336 2763277 2690438 2494915 2405764 2737081 2250837 2265269 2607447 2718805 2657927 2633735 2647477 2596299 2570672 2519494 2692069 2862052 2801224 2783432	2848336 2763277 2690438 2494915 2405764 2737081 2250837 2265269 2607447 2718805 2657927 2633735 2647477 2596299 2570672 2519494 2692069 2862052 2801224 2783432	2848336 2763277 2690438 2494915 2405764 2737081 2250837 2265269 2607447 2718805 2657927 2633735 2647477 2596299 2570672 2519494 2692069 2862052 2801224 2783432	2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017	2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017	2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017	2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017	2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017	2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017	2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017	2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017	2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017	2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017	2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017	2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017	2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017	2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017	2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017	2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017	2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017	2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017	2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017	2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017	2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017	2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017	2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017	2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017	2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017	2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017	2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017	2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017	2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017	2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017	2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017	2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017	2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017	2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017	2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017	2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017	2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017	2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017	2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017	2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017	2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017	2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017	2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017	2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017	2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017	2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017	2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017	2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017	2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017	2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017	2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017	2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017	2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017	2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017	2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017	2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017	2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017	2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017 2764017

Ox+CAA 100µmol/l

Zeit in min	1. Versuch	2. Versuch	3. Versuch	4. Versuch	5. Versuch	6. Versuch	Mittel	StdAbw	VK
0	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	0.000	0.00%
5	72%	68%	41%	47%	46%	46%	52%	0.142	27.20%
15	58%	56%	37%	38%	40%	43%	45%	0.091	19.97%
30	51%	51%	36%	37%	38%	38%	42%	0.074	17.70%
60	37%	41%	27%	28%	27%	27%	31%	0.061	19.41%
120	33%	32%	17%	26%	26%	25%	26%	0.057	21.75%

Signifikanzniveau Student-t-Test (Nullhypothese: Mittel mit Ox.=Mittel ohne Ox.)

Zeit in min	p
0	entfällt
5	0,00014
15	0,00001
30	0,00000
60	0,00000
120	0,00000

Oxamat 100mM

Zeit in min	1. Versuch	2. Versuch	3. Versuch	4. Versuch	5. Versuch	6. Versuch	Mittel	StdAbw	VK
0	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	0.000	0.00%
5	72%	71%	63%	68%	78%	70%	70%	0.050	7.15%
15	64%	64%	54%	55%	57%	61%	58%	0.043	7.30%
30	60%	56%	52%	54%	54%	54%	54%	0.034	6.09%
60	44%	48%	44%	45%	47%	46%	46%	0.021	4.45%
120	40%	41%	41%	41%	47%	44%	44%	0.025	5.87%

Signifikanzniveau Student-t-Test (Nullhypothese: Mittel mit Ox.=Mittel ohne Ox.)

Zeit in min	p
0	entfällt
5	0,02255
15	0,01238
30	0,00451
60	0,01112
120	0,00046

S117 Oxamat 100mmol/l + Chloracetaldehyd 500µmol/l

Zeit in min	1. Versuch RLU	2. Versuch RLU	3. Versuch RLU	4. Versuch RLU	5. Versuch RLU	6. Versuch RLU
Leerwert	8794	8794	62791	62791	51178	51178
Kontrolle	1968894	1978100	2288496	2360094	2899514	3075410
5	1933457	2173340	2164546	2297303	2202863	2264017
	1853507	1844713	2565627	2163543	2193552	2164546
	2028229	2019435	2163004	2117733	2117733	2117733
-5	2000975	1992181	2089046	2089252	2151504	2151504
	2073386	2064592	2022955	183275	2046208	2046208
	1959550	1950756	2202552	1946066	183275	183275
30	2034329	2025535	2108717	2176932	2227848	2231282
	2089197	2097403	2166913	2178119	2155090	2155090
	2020925	2012131	2162754	2159960	2178119	2178119
60	2127663	2118869	2338200	2329406	2329406	2329406
	2199429	2190635	222183	2263369	2465131	2465131
	2224011	2215217	233251	2314457	2243387	2243387
120	2262173	2253379	2575340	2566546	2478994	2446174
	2158528	2149734	2462746	2459952	2352174	2352174
Leerwert	8794	8794	62791	62791	51178	51178
Ox+CAA 500µmol/l	823615	814821	817739	927052	918258	895043
5	835673	826879	926106	917312	814549	751758
	820311	811517	888953	849559	4.40%	824411
-5	745415	736621	705417	736682	727888	746229
	707721	698927	763949	755055	745007	68216
	689496	680702	764538	755744	662130	593289
30	600533	591739	611134	620433	61639	630833
	615283	606489	673501	664707	649197	586406
	643969	635175	616334	625128	616334	4.66%
60	404058	395264	392121	438960	430166	447929
	400684	391890	488464	458670	481754	418819
	398004	389210	0.77%	462746	453952	3.49%
120	208159	198365	211594	254097	248203	250757
	223105	214311	263034	263034	256240	227041
Leerwert	8794	8794	62791	62791	51178	51178

Signifikanzniveau Student-t-Test (Nullhypothese: Mittel mit Ox.=Mittel ohne Ox.)

Zeit in min	IC
0	0
5	15
30	30
60	60
120	120

Signifikanzniveau Student-t-Test (Nullhypothese: Mittel mit Ox.=Mittel ohne Ox.)

Zeit in min	IC
0	0
5	15
30	30
60	60
120	120

Ox+CAA 500µmol/l

Zeit in min	1. Versuch	2. Versuch	3. Versuch	4. Versuch	5. Versuch	6. Versuch
0	100%	100%	100%	100%	100%	100%
5	43%	39%	35%	32%	32%	32%
-5	35%	35%	32%	32%	32%	32%
30	30%	29%	29%	29%	29%	29%
60	19%	19%	18%	18%	18%	18%
120	10%	10%	10%	10%	10%	10%

Oxamat 100mM

Zeit in min	1. Versuch	2. Versuch	3. Versuch	4. Versuch	5. Versuch	6. Versuch
0	100%	100%	100%	100%	100%	100%
5	72%	71%	68%	68%	68%	68%
-5	64%	64%	54%	55%	57%	57%
30	62%	56%	52%	54%	54%	54%
60	44%	48%	44%	45%	47%	47%
120	40%	41%	41%	41%	41%	41%

S117 Oxamat 100mmol/l + Fluoracetat 500µmol/l

Zeit in min	1. Versuch RLU	2. Versuch RLU	Mittel/VK	3. Versuch RLU	4. Versuch RLU	5. Versuch RLU	6. Versuch RLU
Leerwert	8794	8794		3530	3530	16890	16890
Kontrolle	1986894	1978100	2288436	1977932	1987802	2207247	2182333
5	1933457	2173340	2164546	2011836	2008306	2053469	2397661
	1855077	1844713	2565627	1977178	0,89%	2150858	2278671
-5	2028229	2019435	2163004	2151504	1980728	2171127	2291363
	2009975	1992181	2089252	1820338	1816818	2163553	2274473
30	1973386	2064592	1,81%	2211049	2202955	2158730	227671
	1955350	1907566	2024565	2207511	2198717	2168937	2155249
30	2084329	2025535	2166913	2178119	2159960	2128322	2324038
	2081927	2097403	3,62%	2162754	2158960	224557	2379858
-	2020925	2012131	2107212	2358200	2329406	2201328	2319152
60	2127663	2118869	2272183	2263369	1630614	2236060	2401061
	2199429	2190635	4,26%	2332351	2314457	2208511	2279446
-	2224011	2215217	2206110	2575340	2565546	2272934	2267261
120	2262173	2253379	2462746	2459952	2338925	2376354	2226913
	2158528	2149734	2,38%	2368751	2359957	2159376	2378033
Leerwert	8794	8794		3530	3530	16890	16890
Ox+FAC 500µmol/l	1137992	1129168	1131704	1203364	1194570	966236	882669
5	1122536	1113742	126027	752389	753739	977418	901025
	1160996	1152202	1,71%	1413798	1405004	842881	817589
-5	1012003	1003209	1013980	1157767	1148973	803191	896067
	993917	985123	1068514	1058720	1053485	786301	879177
30	1062403	1053609	3,50%	1065599	1076805	752860	855885
	918603	909809	889575	1043202	1034408	699187	804750
30	921647	912853	964755	680339	676839	711856	786861
	856056	847262	4,16%	665278	681728	723825	822680
-	797376	788582	809516	756734	753184	775376	847888
60	847448	838654	856265	531877	528327	655268	830998
	810106	801312	3,21%	534941	531391	668891	693523
-	804644	795850	803722	923437	923434	650445	687551
120	834675	825881	870217	861423	884156	623230	648414
	7982300	7894356	2,42%	846854	837860	618884	577054
	861979	853185	5,28%	602556	599006	601082	630028

Ergebnisse Ox+FAC 500µmol/l

Zeit in min	1. Versuch	2. Versuch	3. Versuch	4. Versuch	5. Versuch	6. Versuch	Mittel	StdAbw	VK
0	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	0,00%	0,00%
5	59%	56%	39%	41%	43%	38%	46%	0,09%	20,24%
-5	50%	51%	34%	32%	34%	38%	40%	0,084	21,10%
30	44%	45%	34%	35%	33%	35%	36%	0,055	14,70%
60	38%	39%	33%	29%	29%	33%	30%	0,048	14,49%
120	36%	36%	24%	27%	26%	26%	25%	0,054	18,44%

Signifikanzniveau Student-t-Test (Nullhypothese: Mittel Verum=Mittel Kontrolle)

Zeit in min	p
0	entfällt
5	0,00000
15	0,00000
30	0,00000
60	0,00000
120	0,00000

Ergebnisse Oxamat 100mM

Zeit in min	1. Versuch	2. Versuch	3. Versuch	4. Versuch	5. Versuch	6. Versuch	Mittel	StdAbw	VK
0	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	0,00%	0,00%
5	72%	71%	68%	68%	78%	70%	70%	0,050	7,15%
-5	64%	64%	54%	55%	57%	61%	58%	0,043	7,30%
30	62%	56%	52%	54%	54%	54%	54%	0,034	6,09%
60	44%	48%	44%	45%	47%	46%	46%	0,021	4,45%
120	40%	41%	41%	41%	47%	44%	42%	0,025	5,87%

Signifikanzniveau Student-t-Test (Nullhypothese: Mittel mit Ox.=Mittel ohne Ox.)

Zeit in min	p
0	entfällt
5	0,00054
15	0,00131
30	0,00013
60	0,00043
120	0,00109

S117 Oxamat 100mmol/l + Oligomycin 10µmol/l

Zeit in min	1. Versuch RLU	2. Versuch RLU	3. Versuch RLU	4. Versuch RLU	5. Versuch RLU	6. Versuch RLU
Leerwert	2900	2900	3550	3550	16890	16890
Kontrolle	2492014	2436275	1981473	2214364	2159167	2182333
5	2458505	2602945	2018556	2152801	2053499	2165443
15	2367007	2560346	1980728	2120986	2133988	2380771
30	2306882	2303782	1695425	214677	2194052	2278671
45	2429731	2466831	1823368	2151529	2141840	2291363
60	2481657	2478757	1662000	2266601	2130047	227671
75	2300001	2297101	2065086	2199990	2128332	2172139
90	2369301	2366401	1925162	2149137	2224537	2324026
105	2424480	2421580	1737621	2262209	2201338	2379858
120	2512185	2509285	1654164	2028786	2252930	2324026
135	2649917	2646017	1585068	2371472	2208511	2362968
150	2685337	2682937	1531093	2063921	2272934	2384197
165	2720382	2717482	2324275	2463991	2376334	2396336
180	2646476	2643576	2421230	2457109	2359464	2267261
195	456231	460559	263990	273724	2307693	2226913
210	479426	476526	259440	307433	231252	2319152
225	454720	451820	263760	279742	231249	2302262
240	245810	255580	114008	157907	131521	2250371
255	264719	251819	113766	147582	151132	2361143
270	272039	269139	13787	131766	159157	2379033
285	234942	232042	127937	128722	142267	2346549
300	237123	234231	103945	127688	132151	230038
315	217545	214645	11573	126880	117645	27348
330	241185	238285	102709	119856	125593	252967
345	232046	239146	104324	124725	131433	272157
360	210652	207152	94304	107851	128875	262354
375	208522	206622	103867	113530	116215	245464
390	210189	207289	109433	112426	143279	170910
405	456231	460559	263990	273724	2307693	2226913
420	479426	476526	259440	307433	231252	2319152
435	454720	451820	263760	279742	231249	2302262
450	245810	255580	114008	157907	131521	2250371
465	264719	251819	113766	147582	151132	2361143
480	272039	269139	13787	131766	159157	2379033
495	234942	232042	127937	128722	142267	2346549
510	237123	234231	103945	127688	132151	230038
525	217545	214645	11573	126880	117645	27348
540	241185	238285	102709	119856	125593	252967
555	232046	239146	104324	124725	131433	272157
570	210652	207152	94304	107851	128875	262354
585	208522	206622	103867	113530	116215	245464
600	210189	207289	109433	112426	143279	170910
615	456231	460559	263990	273724	2307693	2226913
630	479426	476526	259440	307433	231252	2319152
645	454720	451820	263760	279742	231249	2302262
660	245810	255580	114008	157907	131521	2250371
675	264719	251819	113766	147582	151132	2361143
690	272039	269139	13787	131766	159157	2379033
705	234942	232042	127937	128722	142267	2346549
720	237123	234231	103945	127688	132151	230038
735	217545	214645	11573	126880	117645	27348
750	241185	238285	102709	119856	125593	252967
765	232046	239146	104324	124725	131433	272157
780	210652	207152	94304	107851	128875	262354
795	208522	206622	103867	113530	116215	245464
810	210189	207289	109433	112426	143279	170910
825	456231	460559	263990	273724	2307693	2226913
840	479426	476526	259440	307433	231252	2319152
855	454720	451820	263760	279742	231249	2302262
870	245810	255580	114008	157907	131521	2250371
885	264719	251819	113766	147582	151132	2361143
900	272039	269139	13787	131766	159157	2379033
915	234942	232042	127937	128722	142267	2346549
930	237123	234231	103945	127688	132151	230038
945	217545	214645	11573	126880	117645	27348
960	241185	238285	102709	119856	125593	252967
975	232046	239146	104324	124725	131433	272157
990	210652	207152	94304	107851	128875	262354
1005	208522	206622	103867	113530	116215	245464
1020	210189	207289	109433	112426	143279	170910
1035	456231	460559	263990	273724	2307693	2226913
1050	479426	476526	259440	307433	231252	2319152
1065	454720	451820	263760	279742	231249	2302262
1080	245810	255580	114008	157907	131521	2250371
1095	264719	251819	113766	147582	151132	2361143
1110	272039	269139	13787	131766	159157	2379033
1125	234942	232042	127937	128722	142267	2346549
1140	237123	234231	103945	127688	132151	230038
1155	217545	214645	11573	126880	117645	27348
1170	241185	238285	102709	119856	125593	252967
1185	232046	239146	104324	124725	131433	272157
1200	210652	207152	94304	107851	128875	262354
1215	208522	206622	103867	113530	116215	245464
1230	210189	207289	109433	112426	143279	170910
1245	456231	460559	263990	273724	2307693	2226913
1260	479426	476526	259440	307433	231252	2319152
1275	454720	451820	263760	279742	231249	2302262
1290	245810	255580	114008	157907	131521	2250371
1305	264719	251819	113766	147582	151132	2361143
1320	272039	269139	13787	131766	159157	2379033
1335	234942	232042	127937	128722	142267	2346549
1350	237123	234231	103945	127688	132151	230038
1365	217545	214645	11573	126880	117645	27348
1380	241185	238285	102709	119856	125593	252967
1395	232046	239146	104324	124725	131433	272157
1410	210652	207152	94304	107851	128875	262354
1425	208522	206622	103867	113530	116215	245464
1440	210189	207289	109433	112426	143279	170910
1455	456231	460559	263990	273724	2307693	2226913
1470	479426	476526	259440	307433	231252	2319152
1485	454720	451820	263760	279742	231249	2302262
1500	245810	255580	114008	157907	131521	2250371
1515	264719	251819	113766	147582	151132	2361143
1530	272039	269139	13787	131766	159157	2379033
1545	234942	232042	127937	128722	142267	2346549
1560	237123	234231	103945	127688	132151	230038
1575	217545	214645	11573	126880	117645	27348
1590	241185	238285	102709	119856	125593	252967
1605	232046	239146	104324	124725	131433	272157
1620	210652	207152	94304	107851	128875	262354
1635	208522	206622	103867	113530	116215	245464
1650	210189	207289	109433	112426	143279	170910
1665	456231	460559	263990	273724	2307693	2226913
1680	479426	476526	259440	307433	231252	2319152
1695	454720	451820	263760	279742	231249	2302262
1710	245810	255580	114008	157907	131521	2250371
1725	264719	251819	113766	147582	151132	2361143
1740	272039	269139	13787	131766	159157	2379033
1755	234942	232042	127937	128722	142267	2346549
1770	237123	234231	103945	127688	132151	230038
1785	217545	214645	11573	126880	117645	27348
1800	241185	238285	102709	119856	125593	252967
1815	232046	239146	104324	124725	131433	272157
1830	210652	207152	94304	107851	128875	262354
1845	208522	206622	103867	113530	116215	245464
1860	210189	207289	109433	112426	143279	170910
1875	456231	460559	263990	273724	2307693	2226913
1890	479426	476526	259440	307433	231252	2319152
1905	454720	451820	263760	279742	231249	2302262
1920	245810	255580	114008	157907	131521	2250371
1935	264719	251819	113766	147582	151132	2361143
1950	272039	269139	13787	131766	159157	2379033
1965	234942	232042	127937	128722	142267	2346549
1980	237123	234231	103945	127688	132151	230038
1995	217545	214645	11573	126880	117645	27348
2010	241185	238285	102709	119856	125593	252967
2025	232046	239146	104324	124725	131433	272157
2040	210652	207152	94304	107851	128875	262354
2055	208522	206622	103867	113530	116215	245464
2070	210189	207289	109433	112426	143279	170910
2085	456231	460559	263990	273724	2307693	2226913
2100	479426	476526	259440	307433	231252	2319152
2115	454720	451820	263760	279742	231249	2302262
2130	245810	255580	114008	157907	131521	2250371
2145	264719	251819	113766	147582	151132	2361143
2160	272039	269139	13787	131766	159157	2379033
2175	234942	232042	127937	128722	142267	2346549
2190	237123	234231	103945	127688	132151	230038
2205	217545	214645	11573	126880	117645	27348
2220	241185	238285	102709	119856	125593	252967
2235	232046	239146	104324	124725	131433	272157
2250	210652	207152	94304	107851	128875	262354
2265	208522	206622	103867	113530	116215	245464
2280	21					

S117 Oxamat 50mmol/l

Zeit in min	1. Versuch RLU	Mittel/VK	2. Versuch RLU	RLU-Leer	Mittel/VK	3. Versuch RLU	RLU-Leer	Mittel/VK	4. Versuch RLU	RLU-Leer	Mittel/VK	5. Versuch RLU	RLU-Leer	Mittel/VK	6. Versuch RLU	RLU-Leer	Mittel/VK
Leerwert	2831		2831			1633			1633			3635			3635		
Oxamat 50mmol/l	1965795	1962964	2013730	2161670	2158839	2119042	2097025	2095392	2171779	2415022	2413389	2432357	1603441	1599806	1680559	1866737	1863102
5	2067655	2064824		2148995	2146164	2216417	2216417	2214784	2337089	2338722	2337089	1715828	1712193	1712193	2003233	1999598	1999598
	2016234	2013403	2.53%	2054954	2052123	2.75%	2206795	2205162	3.05%	2548226	2546593	4.36%	1733433	1729798	4.20%	1904094	1900459
	1689284	1886453	1717034	1769290	1766459	1814023	1936219	1934586	1976080	2185485	2183852	2180181	1478816	1475181	1537153	1736596	1732861
-5	1727092	1724261		1856997	1854166		2127170	2125537		2127170	2125537		1568231	1564596		1782894	1779259
	1743218	1740387	1.61%	1824276	1821445	2.44%	1908039	1906406	4.92%	2232786	2231153	2.43%	1575316	1571681	3.50%	1635437	1631802
	1517617	1514786	1512462	1758411	1755580	1729388	1881731	1880099	1892341	2049227	2047594	2033532	1565555	1562020	1518864	1739260	1735625
30	1436562	1433731		1666752	1663921		1970153	1968520		1959326	1952593		1510832	1507197		1719190	1715555
	1591701	1588870	5.13%	1741493	1738662	1.84%	1830038	1828405	3.74%	2102342	2100709	3.70%	1491071	1487436	2.54%	1693352	1689717
	1448019	1445188	1411086	1527448	1524617	1488728	1757435	1755802		1971045	1969412		1434314	1431279	1514124	1632700	1629065
60	1435993	1433162		1457973	1453142		1758451	1756818		1938935	1935302		1537962	1533727		1580954	1577319
	1357740	1354909	3.47%	1509255	1506424	3.18%	1844733	1843150	2.81%	1975895	1974262	1.08%	1581001	1577366	4.95%	1607741	1604106
	1314871	1312040	1328317	1447044	1444213	1434323	1460937	1459264		1641679	1640046		1401586	1398001		1545358	1541723
120	1357254	1354423		1421156	1418325		1602499	1600865		1565202	1563569		1457717	1454082		1644480	1640845
	1321318	1318467	1.72%	1443263	1440432	0.97%	1520153	1518520	4.86%	17110362	1708729	4.43%	1379211	1375976	2.87%	1708232	1704597

Ergebnisse Oxamat 50mmol/l Signifikanzniveau Student-t-Test (Nullhypothese: Mittel Verum=Mittel Kontrolle)

Zeit in min	1. Versuch	2. Versuch	3. Versuch	4. Versuch	5. Versuch	6. Versuch	Mittel	StqAbw	VK
0	100%	100%	100%	100%	100%	100%	0.00	0.00	0.00%
5	89%	84%	77%	81%	78%	74%	80%	0.052	6.44%
-5	74%	72%	69%	68%	50%	63%	66%	0.054	7.94%
30	68%	63%	64%	62%	59%	60%	60%	0.032	5.06%
60	58%	55%	58%	59%	58%	57%	57%	0.016	2.79%
120	49%	50%	52%	55%	52%	52%	53%	0.048	8.56%

Zeit in min	p
0	entfällt
5	0.00683
15	0.00015
30	0.00015
60	0.00002
120	0.00000

S117 Oxamat 100mmol/l

Zeit in min	1. Versuch RLU	2. Versuch RLU	3. Versuch RLU	4. Versuch RLU	5. Versuch RLU	6. Versuch RLU
Leerwert	2831	2831	2900	2900	3635	3635
Kontrolle	5	5	5	5	5	5
2347301	2344470	2273376	2534388	2492014	2436275	2618030
2136463	2133632	2531406	2528575	2458505	2600445	2500445
2344866	2342025	2604359	2607528	2367007	2364107	2557446
2263812	2260981	2554163	2553332	2306682	2303782	2403123
2285519	2282688	2560063	2557232	2429731	2426831	2777125
2391545	2388714	2564607	2560776	2481657	2478757	2754993
2391628	2388714	2564607	2560776	2481657	2478757	2754993
2329159	2326328	2751620	2718789	2689301	2686901	2657871
2428549	2425718	2735491	2732660	2689301	2686901	2657871
2458942	2456111	2429465	2679444	2689301	2686901	2657871
2405689	2402858	2632966	2630135	2646917	2646017	2696985
2430		2850010	2827179	2512185	2509285	2815631
2657357	2654526	2687647	2872917	2685837	2682937	3017414
2647371	2644540	2964725	2867894	3047891	3044991	3147565
2766707	2763876	2858924	2855924	3141565	3138665	3141565
Leerwert	2831	2831	2900	2900	3635	3635
Oxamat 100mmol/l	1693560	1890729	1645297	1717505	1714674	1791424
5	1593691	1590860	1834057	183226	1556018	1556018
1657133	1654302	1831204	1828373	1491989	1489089	1489089
1411588	1408757	1476346	1646443	1338496	1335596	1307355
1477120	1474289	1565154	1582323	1342386	1341386	1481464
1548822	1545991	1625744	1622913	1247933	1245083	1548208
1374251	1371420	1371332	1533508	150677	1513425	1371080
1337170	1334339	1475029	1472198	1277003	1274103	1408867
1411069	1408238	2699	150232	151401	260	1502379
1118215	1115384	1074544	1361894	1379063	1287280	1293454
1032037	1029206	1277423	1274592	1161632	1158762	1293454
1081872	1079041	4039	1211017	1208186	6699	1214455
1085292	1083451	1099108	1129752	1126921	1185067	1224626
1084971	1082140		1231019	1228188	110663	1262993
1045684	1041733	2229	1202923	1200992	4419	1300584

Signifikanzniveau Student-t-Test (Nullhypothese: Mittel Verum=Mittel Kontrolle)

Zeit in min	p
0	entfällt
5	0,00002
15	0,00000
30	0,00001
60	0,00000
120	0,00000

Ergebnisse Oxamat 100mmol/l

Zeit in min	1. Versuch	2. Versuch	3. Versuch	4. Versuch	5. Versuch	6. Versuch	Mittel	StqAbw	VK
0	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	0,00	0,00%
5	72%	71%	63%	68%	78%	70%	70%	0,050	7,15%
15	64%	64%	54%	55%	57%	61%	56%	0,043	7,30%
30	62%	56%	52%	54%	54%	54%	54%	0,034	6,09%
60	44%	48%	44%	45%	47%	49%	46%	0,021	4,45%
120	40%	41%	41%	41%	47%	44%	44%	0,025	5,87%

C

Danksagung

Herrn Prof. Dr. Fehm, Direktor der Medizinischen Klinik I, bin ich für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes und des Materials zu Dank verpflichtet.

Herrn Prof. Dr. Wagner, Oberarzt an der Medizinischen Klinik I, danke ich herzlich für die Themenstellung und insbesondere für die geduldige Unterstützung meiner Arbeit.

Frau Vollmer und Frau Bahrs haben mich mit großer Aufgeschlossenheit bei der praktischen Durchführung der Laborversuche beraten und standen immer für Fragen zur Verfügung.

D

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name	Jürgen Walter Philip Hinrichs
Geburtsdatum	24.11.1966
Geburtsort	Köln
Eltern	Antje und Hans Hinrichs
Familienstand	verheiratet
Staatsangehörigkeit	deutsch

Schulausbildung

1972 bis 1976	Auslandsaufenthalt, Grundschulunterricht durch die Mutter
1976 bis 1977	3. und 4. Klasse Grundschule in Bonn
1977 bis 1986	Amos-Comenius-Gymnasium, Bonn Abschluss mit der Allgemeinen Hochschulreife

Zivildienst

1986 bis 1988	Krankentransport und Rettungsdienst Malteser-Hilfsdienst, Bonn
---------------	--

Studium

Sommer 1988 bis Nov. 1995	Studium der Humanmedizin an der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn
Winter 1990 bis Sommer 1992	Grundstudium der Mathematik
Herbst 1990	Ärztliche Vorprüfung
Herbst 1991	Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
Herbst 1994	Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
Okt. 1994 bis Okt. 1995	Praktisches Jahr im Kreiskrankenhaus Lüdenscheid, Akademisches Lehrkrankenhaus der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn
November 1995	Abschluss des Medizinstudiums mit dem Dritten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

Beruflicher Werdegang

15.12.1995 bis 14.06.1997	Arzt im Praktikum
---------------------------	-------------------

20.06.1997	Innere Medizin, Ostholsteinkliniken, Eutin
01.04.1998 bis 30.06.1998	Approbation als Arzt
	Honorartätigkeit als Arzt am Druckkammerzentrum Lübeck
Juni 1997 bis Juli 1998	experimentelle Arbeit an der Dissertation
01.07.1998 bis 30.06.1999	Assistenzarzt Allgemeinmedizin
	Praxis Dres. Kessler, Nieland, Donandt in Pewsum
01.07.1999 bis 15.05.2002	Weiterbildung Arbeitsmedizin
	Meditiv GmbH (TÜV Nord), Hannover
August 1999 bis Oktober 2001	Honorartätigkeit im Auslandsrückholdienst
	Malteser Hilfsdienst / ADAC
seit 01.06.2002	Weiterbildung Psychiatrie und Psychotherapie
	Zentrum für Psychiatrie und Psychotherapeutische Medizin
	Evangelisches Krankenhaus, Bielefeld