

Aus der Medizinischen Klinik I
der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

**Identifikation von Lungentumoren in der Atemluft und im Urin von
Patienten durch den Einsatz von Spürhunden**

Inauguraldissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der
Medizin
der Universitätsmedizin
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Vorgelegt von

Charlotte Antonella Feil

aus Heppenheim

Mainz, 2020

Wissenschaftlicher Vorstand: -----

1. Gutachter: -----

2. Gutachter: -----

Tag der Promotion: 17.11.2020

Inhaltsverzeichnis

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	1
TABELLENVERZEICHNIS	3
ABBILDUNGSVERZEICHNIS	4
1 EINLEITUNG	5
2 LITERATURDISKUSSION	7
2.1 EPIDEMIOLOGIE LUNGENKARZINOM	7
2.2 HISTOLOGISCHE EINTEILUNG DES LUNGENKARZINOMS	9
2.2.1 SCLC	10
2.2.2 ADENOKARZINOM	10
2.2.3 PLATTENEPIHELKARZINOM	11
2.3 RISIKOFAKTOREN DES LUNGENKARZINOMS	11
2.4 FRÜHERKENNUNG	12
2.4.1 SCREENING MITTELS LOW-DOSE-CT.....	12
2.4.2 SCREENING MITTELS RÖNTGEN-THORAX-ÜBERSICHTSAUFNAHME.....	14
2.4.3 SCREENING DURCH ANALYSE VON ZIRKULIERENDEN TUMORZELLEN (CIRCULATING TUMOR CELLS, CTC)	15
2.4.4 BESTIMMUNG VON TUMORMARKERN.....	16
2.4.5 SCREENING MITTELS ZELLFREIER DNA.....	16
2.4.6 NICHT-INVASIVE DIAGNOSTIK ÜBER ATEMPROBEN	17
2.5 DIAGNOSTIK	19
2.6 STADIENEINTEILUNG	22
2.6.1 TNM-KLASSIFIKATION NACH UICC, 8. AUFLAGE (62)	22
2.6.2 KLASSIFIKATION DER TUMORSTADIEN	24
2.7 HUNDENASE	24
2.8 BISHERIGE STUDIENLAGE ZUM THEMA	26
3 MATERIAL UND METHODEN	31
3.1 STUDIENDESIGN	31
3.2 STUDIENTEILNEHMER	31
3.3 DURCHFÜHRTE UNTERSUCHUNGEN IM KOLLEKTIV „KARZINOM“	34
3.3.1 LUNGENFUNKTIONSPRÜFUNG.....	34
3.3.2 BRONCHOSKOPIE	34

3.3.3	PATHOLOGIE UND ZYTOLOGIE	35
3.3.4	CT.....	35
3.3.5	TUMORMARKER.....	36
3.4	PROBEN.....	36
3.4.1	PROBENAUFBAU	36
3.4.1.1	Urinproben	36
3.4.1.2	Atemproben	37
3.4.2	PROBENENTNAHME.....	40
3.4.3	PROBENBESCHRIFTUNG	41
3.4.4	PROBENLAGERUNG.....	42
3.4.5	PROBENTRANSPORT	42
3.5	SPÜRHUND.....	43
3.5.1	RASSE	43
3.6	PRÄSENTATION DER PROBEN.....	43
3.6.1	KONDITIONIERUNGSPHASE	44
3.6.2	STUDIENPHASE	45
3.7	AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE	46
4	<u>ERGEBNISSE.....</u>	48
4.1	DARSTELLUNG DES KONDITIONIERUNGSKOLLEKTIVS.....	48
4.2	DARSTELLUNG DES STUDIENKOLLEKTIVS	48
4.3	VERGLEICH DER KOLLEKTIVE IN KONDITIONIERUNGS- UND STUDIENPHASE.....	53
4.3.1	VERGLEICH DER GESCHLECHTSVERTEILUNG IN BEIDEN PHASEN	53
4.3.2	VERGLEICH DER VERTEILUNG DES RAUCHSTATUS IN BEIDEN PHASEN	54
4.3.3	VERGLEICH DER VERTEILUNG DER TUMORENTITÄTEN IN BEIDEN PHASEN	55
4.3.4	VERGLEICH DER VERTEILUNG DER TUMORSTADIEN NACH UICC IN BEIDEN PHASEN.....	56
4.4	ERGEBNISSE DER BRONCHOSKOPIE.....	57
4.5	ERGEBNISSE DER CT	57
4.6	UNTERSCHIEDE DER LUNGENFUNKTION.....	57
4.7	ERGEBNISSE DER TUMORMARKER.....	59
4.8	ERGEBNISSE DES ATEMTESTS	61
4.8.1	VERGLEICH DER ERGEBNISSE DES ATEMTESTS MIT DEN BRONCHOSKOPIEERGEBNISSEN	63
4.8.2	LOGISTISCHE REGRESSIONSANALYSE ZUR EINSCHÄTZUNG DES EINFLUSSES VON RAUCHSTATUS, ALKOHOLKONSUM UND DEM VORLIEGEN EINES HARNWEGSINFEKTS AUF DIE BEURTEILUNG DER ATEMPROBEN	64
4.9	ERGEBNISSE DES URINTESTS	64
4.9.1	VERGLEICH DER ERGEBNISSE DES URINTESTS MIT DEN BRONCHOSKOPIEERGEBNISSEN	66

4.9.2	LOGISTISCHE REGRESSIONSANALYSE ZUR EINSCHÄTZUNG DES EINFLUSSES VON RAUCHSTATUS, ALKOHOLKONSUM UND DEM VORLIEGEN EINES HARNWEGSINFEKTS AUF DIE BEURTEILUNG DER URINPROBEN	66
4.10	VERGLEICH DER ERGEBNISSE VON URIN- UND ATEMTEST NACH TUMORENTITÄT UND UICC-STADIUM	67
4.11	VERGLEICH DER SENSITIVITÄT DER IN DIESER STUDIE ANGEWANDTEN DIAGNOSTISCHEN METHODEN IN DER BRONCHIALKARZINOMDIAGNOSTIK (ABBILDUNG 24).....	68
5	<u>DISKUSSION.....</u>	69
5.1	PATIENTENKOLLEKTIV	69
5.2	PROBENUMGANG UND -AUFBAU	71
5.3	HUND UND HUNDEKONDITIONIERUNG	73
5.4	DISKUSSION DER ERGEBNISSE	77
5.5	MÖGLICHE STÖRFAKTOREN AUF DIE DETEKTION	79
5.5.1	MEDIKAMENTE UND COPD	80
5.5.2	KRANKENHAUSGERUCH	80
5.5.3	TABAKKONSUM	81
5.5.4	BEURTEILUNG CONFOUNDER	82
5.6	EINSATZ VON HUNDEN ZUM SCREENING AUF LUNGENKARZINOME	82
5.7	AUSBLICK	84
5.7.1	ELEKTRONISCHE NASEN UND IDENTIFIKATION KARZINOMSPEZIFISCHER VOCS	85
6	<u>ZUSAMMENFASSUNG.....</u>	88
7	<u>LITERATURVERZEICHNIS</u>	90
8	<u>ANHANG</u>	100
8.1	ETHIKANTRAG DER STUDIE INKLUSIVE EINVERSTÄNDNIS- UND DATENSCHUTZERKLÄRUNG	100
	<u>DANKSAGUNG</u>	120
	<u>TABELLARISCHER LEBENSLAUF.....</u>	121

Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Bedeutung
CT	Computertomographie
BC	Bronchialkarzinom
DKFZ	Deutsches Krebsforschungszentrum (hier: in Heidelberg)
SCLC	Small cell lung cancer, Kleinzelliges Lungenkarzinom
NSCLC	Non small cell lung cancer, Nicht-Kleinzelliges Lungenkarzinom
EGFR	Epidermal growth factor
PY	Pack years, Anzahl an Zigarettenpackungen pro Tag multipliziert mit den Jahren, die ein Patient raucht/geraucht hat
NLST	The National Lung Screening Trial
PLCO	Prostate, Lung, Colorectal and Ovarian Randomized Screening Trial
CTC	Circulating Tumor Cell
NSE	Neuronenspezifische Enolase
CEA	Carcinoembryonales Antigen
CYFRA 21-1	Cytokeratin-Fragment 21-1
ng	Nanogramm
ml	Milliliter
DNA	Desoxyribonukleinsäure
PCR	Polymerase-Chain-Reaction, Polymerasekettenreaktion
VOC	Volatile Organic Compounds, Flüchtige organische Verbindungen
GC-MS	Gas chromatography-mass spectrometry; Gaschromatographie mit Massenspektrometrie-Kopplung
eNOSE	Electric Nose; elektronische Nase
SIADH	Syndrom der inadäquaten ADH-Sekretion
TTNA	Transthorakale Nadelaspiration
FDG	Fluordesoxyglucose
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
UICC	Union internationale contre le cancer, internationale Organisation mit Sitz in Genf, die sich mit der Krebserforschung, -prävention und -behandlung

	beschäftigt
IASLC	International Association for the Study of Lung Cancer
OR	Olfactory Receptor, Rezeptor zur olfaktorischen Wahrnehmung
ORC	Olfactory Receptor Cell
cm ²	Quadratcentimeter
COPD	Chronic obstructive pulmonary disease, Chronisch-obstruktive Lungenerkrankung
FEV1	Forced Expiratory Volume, Einsekundenkapazität
mm	Millimeter
EBUS	Endobronchialer Ultraschall

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Tabellarische Übersicht über alle bisher publizierten Studien zur olfaktorischen Detektion von Lungenkarzinomen durch Spürhunde	28
Tabelle 2: Ein- und Ausschlusskriterien für alle Patienten in Konditionierungs- und Studienphase für Kollektiv „Karzinom“ und Kollektiv „Kontrolle“	32
Tabelle 3: Erfasste Daten beider Kollektive.....	33
Tabelle 4: Liste des für die Atemproben verwendeten Materials.....	38
Tabelle 5: Verteilung der Geschlechter im Karzinomkollektiv der Studienphase ($p = 0,373$) .	49
Tabelle 6: Rauchstatus pro Tumorentität ($p = 0,293$)	50
Tabelle 7: Angaben zum Alkoholkonsum in der Studienphase ($p = 0,869$)	50
Tabelle 8: Harnwegsinfekte bei Patienten der Studienphase ($p = 0,840$)	50
Tabelle 9: Tabellarischer Vergleich der Kollektive in Konditionierungs- und Studienphase ...	52
Tabelle 10: Bronchoskopie-Ergebnisse in Abhängigkeit der Tumorentität ($p = 0,061$).....	57
Tabelle 11: FEV1 der Karzinompatienten im Studienkollektiv	58
Tabelle 12: Werte der FEV1 in unterschiedlichen UICC-Stadien	58
Tabelle 13: Ergebnis der Bestimmung der Tumormarker	60
Tabelle 14: Sensitivität und Spezifität der Bewertung der Atemproben ($p < 0,001$)	61
Tabelle 15: Sensitivität der Bewertung der Atemproben nach Tumorentität ($p = 0,710$)	62
Tabelle 16: Sensitivität der Bewertung der Atemproben nach UICC-Stadium ($p = 0,793$).....	62
Tabelle 17: Ergebnis Atemtest in Abhängigkeit der FEV1 ($p = 0,646$)	63
Tabelle 18: Vergleich der Ergebnisse aus Bronchoskopie und Atemtest ($p = 0,970$)	63
Tabelle 19: Sensitivität und Spezifität der Bewertung der Urinproben ($p < 0,001$)	64
Tabelle 20: Sensitivität der Bewertung der Urinproben nach Tumorentität ($p = 0,865$)	65
Tabelle 21: Sensitivität der Bewertung der Urinproben nach UICC-Stadium ($p = 0,167$)	65
Tabelle 22: Vergleich der Ergebnisse aus Bronchoskopie und Urintest ($p = 0,363$).....	66

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Graphische Darstellung der altersspezifischen Erkrankungsraten nach Geschlecht, Deutschland 2015-2016, Quelle: Robert Koch Institut (1).....	7
Abbildung 2: Graphische Darstellung des relativen 5-Jahres-Überlebens des Lungenkarzinomleidens 2011-2013 nach histologischem Typ und Geschlecht, Quelle: Zentrum für Krebsregisterdaten (5)	8
Abbildung 3: Graphische Darstellung des relativen 5-Jahres-Überlebens nach UICC-Stadium und Geschlecht, Deutschland 2015-2016, Quelle: Robert-Koch-Institut (1)	9
Abbildung 4: TNM-Klassifikation des Lungenkarzinoms nach UICC 8. Auflage, übernommen aus: (62).....	23
Abbildung 5: Stadien-Einteilung Lungenkarzinom, übernommen aus: (62).....	24
Abbildung 6: 2,5 cm x 6 cm große Polypropylenwattestreifen	38
Abbildung 7: Befüllen der Glasröhrchen mit der Polypropylenwatte	39
Abbildung 8: Fertiges Atemproberöhrchen	39
Abbildung 9: Darstellung der Handhabung der Atemproberöhrchen bei der Abgabe der Atemproben	41
Abbildung 10: Spürhund "Ännie"	43
Abbildung 11: Probenvorrichtung	44
Abbildung 12: Geschlechtsverteilung in Konditionierungsphase (n = 186).....	53
Abbildung 13: Geschlechtsverteilung in Studienphase (n = 246)	53
Abbildung 14: Unterschiede im Rauchstatus in der Konditionierungsphase (n = 186)	54
Abbildung 15: Unterschiede im Rauchstatus in der Studienphase (n = 246)	54
Abbildung 16: Verteilung der Tumorentitäten in der Konditionierungsphase (n = 36)	55
Abbildung 17: Verteilung der Tumorentitäten in der Studienphase (n = 41).....	55
Abbildung 18: Verteilung der UICC-Stadien in der Konditionierungsphase (n = 36)	56
Abbildung 19: Verteilung der UICC-Stadien in der Studienphase (n = 41)	56
Abbildung 20: Vergleich der FEV1-Ergebnisse in unterschiedlichen UICC-Stadien	59
Abbildung 21: Pathologische Tumormarker der einzelnen Tumorentitäten	60
Abbildung 22: Ergebnis des Hundes in Abhängigkeit der Tumorentität	67
Abbildung 23: Ergebnis des Hundes in Abhängigkeit des UICC-Stadiums.....	67
Abbildung 24: Graphische Darstellung des Vergleichs der Sensitivität der diagnostischen Methoden.....	68

1 Einleitung

Karzinomerkrankungen stellen die zweithäufigste Todesursache nach Herz-Kreislauf-Erkrankungen in Deutschland dar. Das Lungenkarzinom ist sowohl bei Männern als auch bei Frauen ein sehr häufiges Karzinomleiden und damit auch eine sehr häufige Todesursache: 2016 war es bei Frauen das dritthäufigste Karzinomleiden, jedoch die zweithäufigste Tumorentität bezogen auf die Karzinomsterbefälle. Bei Männern war es 2016 sogar das zweithäufigste Karzinomleiden und die häufigste Entität bezogen auf die Karzinomsterbefälle (1).

Die häufig schlechte Prognose des Lungenkarzinomleidens ist vor allem auf die späte Diagnosestellung zurückzuführen: Lungenkarzinome machen – wenn überhaupt – erst in einem späten Stadium Symptome und diese sind dann häufig unspezifisch; ein Husten kann beispielsweise ebenso zunächst für eine Erkältung gehalten werden. Mehr als die Hälfte aller Lungenkarzinomdiagnosen werden zu einem Zeitpunkt gestellt, bei dem sich die Erkrankung bereits im fortgeschrittenen Stadium befindet, nämlich im UICC-Stadium 4 – in diesem Stadium beträgt die 5-Jahres-Überlebensrate nach Diagnosestellung unter 5 % (1).

Anders als bei anderen Karzinomleiden – zum Beispiel dem häufigsten Karzinomleiden bei Frauen, dem Mammakarzinom, auf den mittels Mammographie bundesweit gescreent wird – existiert bis heute kein Screening auf das Lungenkarzinom (2). Dessen Entwicklung wäre in Anbetracht des Anteils der Erkrankung an den Todesfällen in Deutschland und weltweit von hoher Relevanz. Früherkennungsmaßnahmen für das Lungenkarzinom könnten zu einer früheren Diagnosestellung und damit zu einer besseren Prognose von Patienten führen.

Es wurden bereits verschiedene Ansätze zur Entwicklung eines Lungenkarzinomscreenings verfolgt – in manchen Ländern ist bereits die Durchführung einer Low-Dose-Computertomographie (CT) als Screening in einer Risikopopulation etabliert worden, zum Beispiel in den USA (3). Hier konnte in der bisher größten Studie zum Nutzen eines solchen Screenings, dem National Lung Screening Trial (NLST, (4)), eine Mortalitätsreduktion von 20% bei ehemaligen oder aktuellen Rauchern durch ein jährliches Low-Dose-CT-Screening gezeigt werden. In Deutschland wird ein solches Screening bisher nicht empfohlen, da es häufig falsch-positive Ergebnisse liefert und man dazu außerdem ein Strahlenrisiko in Kauf nehmen muss (2).

In einem anderen Ansatz wurde bereits in einigen internationalen Studien versucht, Spürhunde auf die Detektion von Lungenkarzinomen in verschiedenen Medien zu konditionieren. Obwohl einige dieser Studien bereits vielversprechende Ergebnisse liefern konnten, so waren sie sehr uneinheitlich in Bezug auf das Medium, in welchem die Hunde Lungenkarzinome detektieren sollten (Urin, Blut, Atem, Biopsiematerial), in Bezug auf den Aufbau und die Präsentation der Proben sowie in Bezug auf die Hunde und auf ihre Konditionierung. Hinzu kommt, dass die Studien oft nur Fallzahlen von unter 100 Patienten vorweisen konnten. Ob sich das canine Riechorgan also als nichtinvasives und risikoarmes Screening auf Lungenkarzinom eignet, konnte bis heute nicht abschließend geklärt werden. Ebenso wenig konnte bisher identifiziert werden, welche Molekülsignatur ein Hund riecht, die es ihm ermöglicht, Proben von Lungenkarzinompatienten von jenen gesunder Patienten zu unterscheiden – die Hunde werden also bisher auf eine Art „Phantom“ konditioniert.

Ziel dieser Studie war es herauszufinden, ob eine olfaktorische Detektion von Lungenkarzinomen mithilfe von spezifisch konditionierten Spürhunden in einem fortlaufenden Patientenkollektiv eines kommunalen Krankenhauses möglich ist. Das Patientenkollektiv der Studie kommt damit einer zufällig verteilten Patientenzusammensetzung, wie sie in einer Screeningsituation vorstellbar wäre, sehr nahe. In einem weiteren Schritt (dieser stellt allerdings nicht Inhalt dieser Dissertation dar), soll mithilfe massenspektroskopischer Verfahren am Deutschen Krebsforschungszentrum Heidelberg (DKFZ) anhand von Urin- und Atemproben derselben Patienten herausgefunden werden, welche Moleküle bzw. Molekülsignaturen von einem Hund detektiert werden.

Es wurde eine doppelblinde, prospektive klinische Studie mit 432 Patienten an der Klinikum Darmstadt GmbH in Zusammenarbeit mit der pneumologischen Praxis -----
----- in Darmstadt durchgeführt.

2 Literaturdiskussion

2.1 Epidemiologie Lungenkarzinom

Das Lungenkarzinom gehört weltweit zu den häufigsten Karzinomerkrankungen mit einer Inzidenz von 21.500 Neuerkrankungen bei Frauen und 35.960 bei Männern in Deutschland 2016 (1).

Bei Männern lässt sich seit den 1980er Jahren ein Rückgang der Inzidenzrate verzeichnen, während die Inzidenzrate bei Frauen zunimmt (2). Zwischen 2003 und 2013 konnte ein Trend der Anzahl an Neuerkrankungen von -1,2 % bei Männern sowie +3,1 % bei Frauen verzeichnet werden, sodass das Robert-Koch-Institut für 2020 eine zunehmende Anzahl an Lungenkarzinomneuerkrankungen von 25.920 bei Frauen bei gleichzeitig gering abnehmender Anzahl an Lungenkarzinomneuerkrankungen von 36.460 bei Männern prognostiziert.

2016 war das Lungenkarzinomleiden bei Frauen die dritthäufigste Tumorlokalisation mit 9,2 % aller Karzinomneuerkrankungen nach Karzinomneuerkrankungen an der Brustdrüse (29,5 %) und Karzinomneuerkrankungen an Darmkarzinom (11,1 %) (1). Bei Männern war es 2016 die zweithäufigste Tumorlokalisation aller Karzinomneuerkrankungen mit 13,9 %, nach Karzinomneuerkrankungen an der Prostata (22,7 %) (1).

Die 5-Jahres-Prävalenz wird mit 58.300 bei Männern und 38.200 bei Frauen angegeben (5). Es ist eine Erkrankung vor allem der älteren Generation (Abbildung 1): das mittlere Erkrankungsalter lag 2016 bei 69 Jahren bei Männern und bei 70 Jahren bei Frauen (1).

Altersspezifische Erkrankungsrate nach Geschlecht, ICD-10 C33–C34, Deutschland 2015–2016
je 100.000

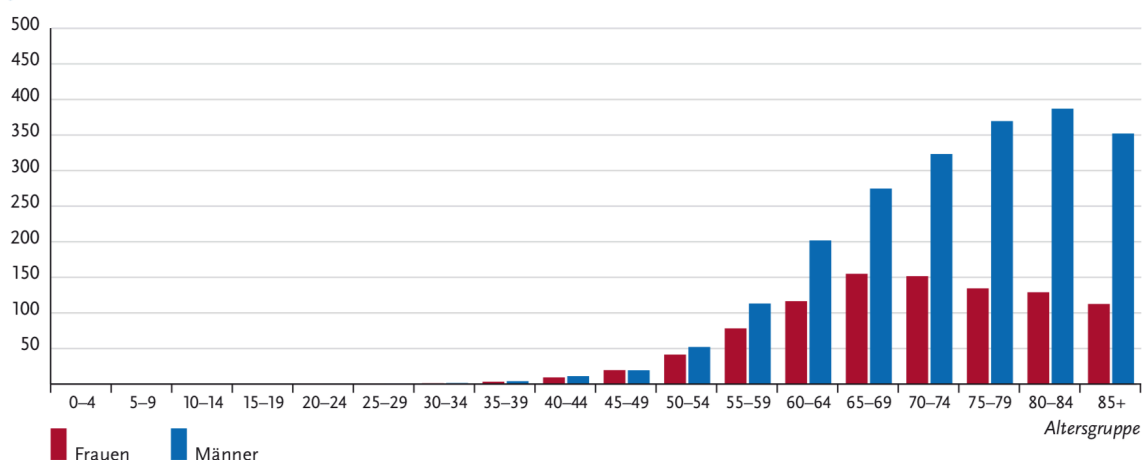


Abbildung 1: Graphische Darstellung der altersspezifischen Erkrankungsrate nach Geschlecht, Deutschland 2015-2016, Quelle: Robert Koch Institut (1)

Das Lungenkarzinom gehört zu den malignen Erkrankungen mit ungünstiger Prognose mit einer Mortalität von 16.382 Sterbefällen bei Frauen und 29.692 Sterbefällen bei Männern in Deutschland 2017 (1). Die Mortalitätsrate nimmt bei Männern und Frauen mit dem Alter zu und erreicht ein Maximum in der Altersklasse zwischen 80 und 84 Lebensjahren (2), sodass ein fortgeschrittenes Alter bei Diagnosestellung als ein prognostisch ungünstiger Faktor gilt (5). Das mittlere Sterbealter betrug 2017 71 Lebensjahre bei Frauen und 72 Lebensjahre bei Männern (1).

Bezogen auf die Karzinomsterbefälle in Deutschland 2016 stellt das Lungenkarzinom bei Männern die häufigste Karzinomart dar mit 23,5 % aller Karzinomsterbefälle und bei Frauen die zweithäufigste mit 15,7 % nach Karzinomerkrankungen der Brustdrüse (17,6 %) (1).

Nach den aktuellen Zahlen des Robert-Koch-Instituts liegt das relative 5-Jahres-Überleben nach Diagnosestellung bei Männern bei 15 %, bei Frauen bei 21 % (5), die Prognose des Lungenkarzinoms ist aber vor allem von histologischem Subtyp und UICC-Stadium bei Diagnosestellung abhängig (5).

Der histologische Subtyp mit ungünstigster Prognose ist das kleinzellige Lungenkarzinom (5) (Abbildung 2).

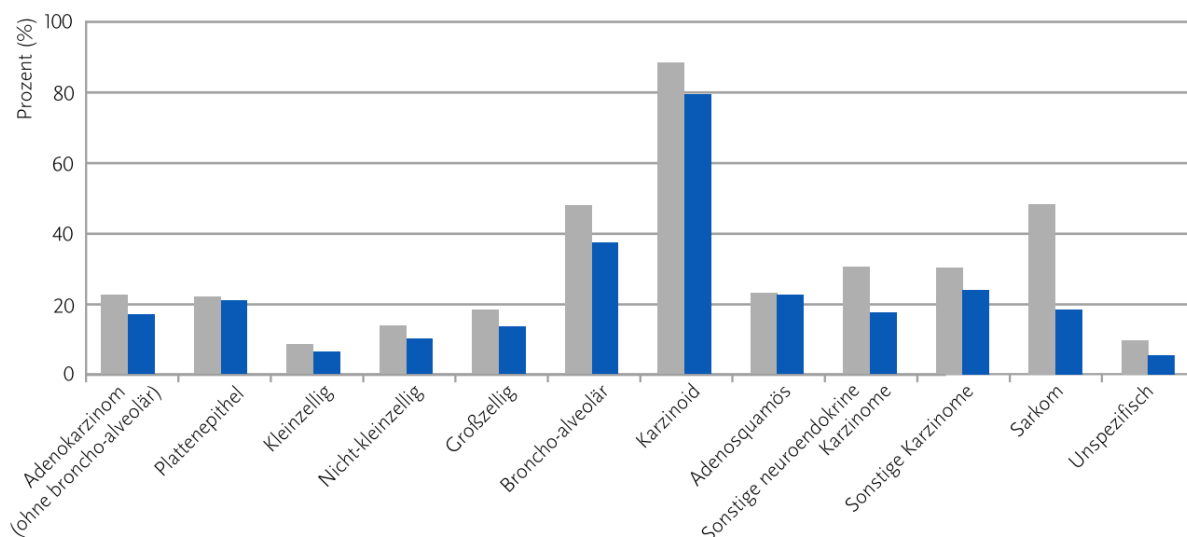


Abbildung 2: Graphische Darstellung des relativen 5-Jahres-Überlebens des Lungenkarzinomleidens 2011-2013 nach histologischem Typ und Geschlecht, Quelle: Zentrum für Krebsregisterdaten (5)

Eine frühe Diagnose ist für die Prognose der Patienten essentiell (Abbildung 3): Im UICC-Stadium 1 beträgt die 5-Jahres Überlebenschance 75 % bei Frauen und 58 % bei Männern.

Jedoch werden nur 17 % der Lungenkarzinomerkrankungen bei Frauen und 14 % der Lungenkarzinomerkrankungen bei Männern in diesem frühen Stadium diagnostiziert (1). Im Vergleich hierzu beträgt die 5-Jahres Überlebensrate bei Diagnose einer Lungenkarzinomerkrankung im UICC-Stadium 4 nur noch 5 % bei Frauen und 3 % bei Männern (1).

Über 50 % aller Lungenkarzinomneudiagnosen werden sowohl bei Männern als auch bei Frauen erst im UICC-Stadium 4 gestellt (1).

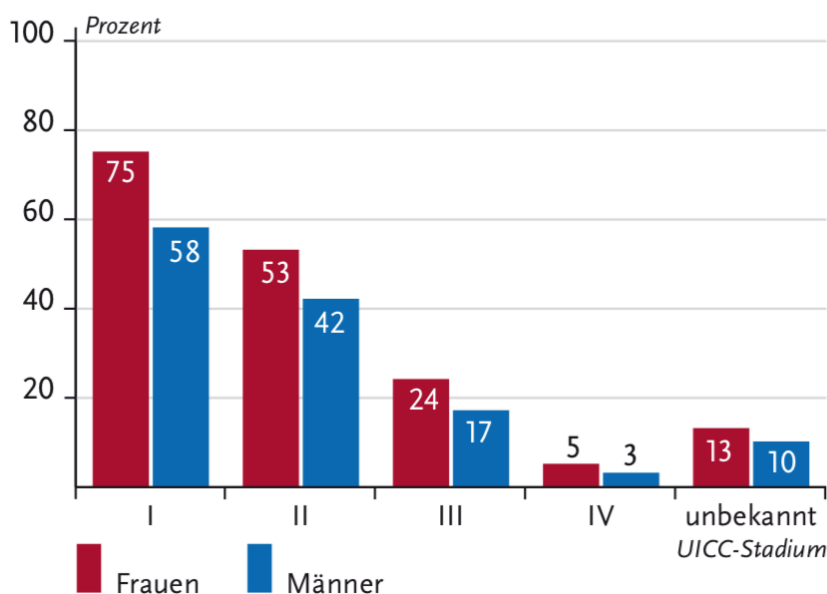


Abbildung 3: Graphische Darstellung des relativen 5-Jahres-Überlebens nach UICC-Stadium und Geschlecht, Deutschland 2015-2016, Quelle: Robert-Koch-Institut (1)

2.2 Histologische Einteilung des Lungenkarzinoms

Aufgrund von therapeutischen und prognostischen Gründen erfolgt eine Unterscheidung der Lungenkarzinome in kleinzellige Lungenkarzinome (Small cell lung cancer, SCLC) und nicht-kleinzellige Lungenkarzinome (Non small cell lung cancer, NSCLC). NSCLCs werden weiterhin hauptsächlich unterteilt in Adenokarzinome und Plattenepithelkarzinome, jedoch gehören dieser Gruppe auch seltenere Subtypen an, wie das großzellige oder das sarkomatoide Karzinom (6).

Adeno- und Plattenepithelkarzinome sind im Allgemeinen mit einer besseren Prognose assoziiert als SCLCs (5). Ein weiterer Unterschied betrifft die Therapie: SCLCs können in den meisten Fällen nur mit Chemotherapie und gegebenenfalls Radiotherapie behandelt

werden, während bei Adeno- und Plattenepithelkarzinomen oft noch eine chirurgische und damit potentiell kurative Behandlung möglich ist (7).

2.2.1 SCLC

SCLCs sind hochmaligne, aggressive Karzinome, die von neuroendokrinen Zellen des Bronchialsystems ausgehen und meist zentral hilumnah liegen (6). Sie machen ca. 15 % aller Lungenkarzinome aus (8) und besitzen eine äußerst schlechte Prognose (8): das mediane Überleben ohne Therapie nach Diagnosestellung beträgt nur 2 - 4 Monate. Meist liegt das SCLC bei Diagnosestellung schon im metastasierten Zustand vor und ist dann in der Regel inoperabel (6,8). Da sich häufig bei Diagnosestellung schon asymptomatische Gehirnmetastasen finden, gehört eine Bildgebung des Gehirns bei dieser Tumorentität zur initialen Diagnostik (2,8).

Durch ihr schnelles Wachstum können SCLCs gut mittels Chemo- und Strahlentherapie behandelt werden, allerdings kommt es nach Beendigung der Therapie auch häufig zu Rezidiven (6).

2.2.2 Adenokarzinom

In den vergangenen Jahren war das Adenokarzinom der häufigste Primärtumor der Lunge mit einem Anteil von mehr als 40 % an allen Lungenkarzinomen (8). Darüber hinaus ist es die Lungenkarzinomentität, die am häufigsten bei Nichtrauchern, Frauen und bei jungen Patienten vor dem 45. Lebensjahr auftritt (7). Adenokarzinome liegen meist peripher und können sich daher auch durch eine Ausbreitung in die Pleura und mit Pleuraerguss manifestieren (8). Sie entstehen in den meisten Fällen in der terminalen bronchioalveolären Einheit bzw. den Alveolen (8) ausgehend von Typ-II-Pneumozyten (6).

Adenokarzinome gehören zu den NSCLCs und sind daher oft noch operabel, während sie schlecht auf eine Chemotherapie reagieren (7). In den vergangenen Jahren wurden immer mehr zielgerichtete Therapien entwickelt, die auf molekularer Ebene in das Tumorwachstum von Adenokarzinomen eingreifen, da ca. 70 % aller Adenokarzinome onkogene Treibermutationen aufweisen (8). Ein Beispiel hierfür ist eine gegen den epidermal growth factor receptor (EGFR) gerichtete Therapie, da einigen Adenokarzinomen die EGFR-pathway Aktivierung gemein ist (6,8). Weitere genetische Alterationen, gegen die zielgerichtete Therapien bestehen, sind die BRAF-Mutation sowie die ALK- und ROS1-Rearrangements (8).

2.2.3 Plattenepithelkarzinom

Plattenepithelkarzinome gehen von Basalzellen des Bronchialsystems aus und liegen meist zentral hilumnah, ähnlich wie SCLCs. Basalzellen ersetzen Zellen, die aufgrund von Zellschädigung (wie sie beispielsweise durch Nikotinabusus auftritt) absterben (6). Plattenepithelkarzinome entwickeln sich von normalem Epithel ausgehend über eine Metaplasie des respiratorischen Epithels zu einer Dysplasie, zu einem Carcinoma in situ oder zu einem invasivem Karzinom (6,8). Sie können zunächst über mehrere Jahre als Carcinoma in situ – also ohne Infiltration der Basalmembran - existieren (7). Plattenepithelkarzinome machen ca. 25 –30 % aller Lungenkarzinome aus und sind fast immer mit einer Raucheranamnese assoziiert (8).

Durch ihr Auftreten in zentralen Bronchien können sie zu einer Obstruktion derselben führen, die sich als Retentionspneumonie oder Atelektase zeigen kann (8).

Zentrale Tumore können sich außerdem ins Mediastinum ausbreiten und durch Infiltration der Vena cava superior zu einer oberen Einflusstauung bzw. durch Infiltration des N. laryngeus recurrens zu einer Stimmlippenparese mit konsekutiver Heiserkeit führen (8).

2.3 Risikofaktoren des Lungenkarzinoms

Rauchen ist der Hauptrisikofaktor zur Entwicklung eines Lungenkarzinoms (2): 90 % aller Lungenkarzinome sind auf Tabakkonsum zurückzuführen (7–9). Starke Raucher, die 40 Packyears (PY, Anzahl an Zigarettenpackungen pro Tag multipliziert mit den Jahren, die der Patient raucht) kumulativ konsumiert haben, haben ein 60fach höheres Risiko, ein Lungenkarzinom zu entwickeln als Nichtraucher (7).

Inhaltsstoffe des Tabakrauchs wirken karzinogen und verursachen Genmutationen, die zur Entstehung eines Lungenkarzinoms führen können (10): hierbei scheint eine Mutation des TP53-Gens am häufigsten aufzutreten. Mutationen des KRAS-Gens findet man bei ca. 30% aller Adenokarzinome der Lunge. Andere Gene, in denen es tabakassoziiert zu Mutationen kommen kann sind das FHIT-Gen, das Bcl-2-Gen und das BAX-Gen (10).

Da allerdings nicht alle Raucher ein Lungenkarzinom entwickeln, sondern nur ca. 11 % aller starken Raucher, wird angenommen, dass der mutagene Effekt des Tabakrauchens ebenfalls von genetischen Faktoren beeinflusst wird (7). Polymorphismen des Gens für das Cytochrom P450-Protein scheinen zu einem reduzierten Lungenkarzinomrisiko bei Rauchern zu führen (10).

Passivrauchen erhöht ebenfalls das Risiko, ein Lungenkarzinom zu entwickeln: Laut dem deutschen Krebsforschungszentrum sind jährlich ca. 300 Neuerkrankungen an Lungenkarzinomen bei Nichtrauchern auf Passivrauchen zurückzuführen (11).

9–15 % der Lungenkarzinomneuerkrankungen werden auf kanzerogene Stoffe zurückgeführt wie Asbest, polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe sowie Quarz- und Nickelstäube (2). Eine Belastung mit Radon erhöht ebenfalls das Lungenkarzinomrisiko durch den mutagenen Effekt seiner alpha-Strahlung (6,12). Radon-222 ist ein natürlich vorkommendes Edelgas, welches in verschiedenen Regionen Deutschlands in besonders hohen Konzentrationen vorkommt (z. B. bayerischer Wald oder Erzgebirge). So kommt es zu einer beruflichen Exposition bei Tätigkeiten im Bergbau oder in Wasserwerken, aber auch zur privaten Exposition durch Übertritt des Edelgases in Gestein in Innenräumen (besonders in Keller- und Erdgeschossräumen) (13,14).

Weitere berufliche, strahlenbedingte Risikofaktoren sind Röntgenstrahlen bei medizinischem Personal und kosmische Strahlung bei Flugpersonal (15).

Eine Belastung mit Asbest ist ebenfalls als Risikofaktor zu nennen, auch wenn eine Asbestbelastung meist eher zur Entstehung eines Pleuramesothelioms führt. Asbest wird seit 1973 als humankanzerogen eingestuft, wobei vor allem Chrysotil (Weißasbest), Amosit (Braunasbest) und Krokydolith (Blauasbest) hierbei eine Rolle spielen (6,16).

2.4 Früherkennung

Eine frühe Diagnosestellung ist für die Verbesserung der Überlebenschancen eines Patienten essentiell (1,2). Aktuell existiert in Deutschland kein Screening auf Lungenkarzinom, auch nicht in Risikogruppen (2).

International wurde über verschiedene Methoden diskutiert, um eine Früherkennung oder ein Screening auf das Lungenkarzinom zu etablieren.

2.4.1 Screening mittels low-dose-CT

Die Einführung einer low-dose-CT bei Risikopopulationen als Screening auf das Lungenkarzinom wird rekurrend diskutiert.

Zwischen 2002 und 2004 wurden 53.454 Patienten in The National Lung Screening Trial (NLST) eingeschlossen (4,17). In dieser Studie wurden ein jährliches low-dose-CT-Screening und ein anterior-posteriore Röntgen-Thorax-Screening verglichen. Dabei wurden Patienten eingeschlossen, die zwischen 55 und 74 Jahre alt waren und ein gewisses Risikoprofil für

Lungenkarzinome aufwiesen – nämlich jene, die in Summe mindestens 30 PY geraucht haben und entweder bei Studieninklusion noch rauchten oder maximal 15 Jahre zuvor mit dem Rauchen aufgehört hatten. Alle Patienten wurden bis 31. Dezember 2009 bezüglich der Todesfälle, dem Auftreten eines Lungenkarzinomes, bezüglich Komplikationen oder sonstiger Auffälligkeiten nachverfolgt (17). 24,2 % der Patienten der low-dose-CT-Gruppe erhielten während der drei Jahre ein positives Testergebnis, in der Röntgen-Thorax-Gruppe waren es 6,9 % (4). Die Sensitivität des low-dose-CT-Screenings betrug 93,8 %, die Spezifität 73,4 %. Im Gegensatz dazu betrug die Sensitivität des Röntgen-Screenings 73,5 % und die Spezifität 91,3 % (18). Das low-dose-CT-Screening zeigte zwar einerseits eine Reduktion der Mortalität um 20 %, andererseits kam es jedoch zu einer hohen Rate an falsch-positiven Ergebnissen und zu einer Überdiagnostizierung (Diagnosestellung bei gleichzeitig nicht vorhandener Mortalitätsreduktion). Über alle drei Jahre hinweg betrug die Rate an falsch-positiven Ergebnissen in der low-dose-CT-Gruppe 96,4 % und in der Röntgen-Gruppe 94,5 % (4). Über alle Tumorhistologien hinweg kam es zu einer Überdiagnostizierung von 18,5 % (19). Die Ergebnisse der NLST-Studie bezüglich der Mortalitätsreduktion wurden kürzlich durch die NELSON-Studie bestätigt: In dieser Studie wurden 13.195 Männer und 2594 Frauen zwischen 50 und 74 Jahren eingeschlossen und randomisiert in eine Gruppe, die zum Studienstart, nach einem Jahr, nach drei Jahren und nach 5,5 Jahren ein low-dose-CT-Screening erhielt oder in eine Gruppe, die kein Screening erhielt (20). Alle Patienten wurden mindestens zehn Jahre nachverfolgt bis 31. Dezember 2015. In der low-dose-CT-Gruppe kam es zu einer Lungenkarzinommortalität von 2,5 Toten pro 1000 Patientenjahre, während es in der Kontrollgruppe ohne Screening 3,3 Tote pro 1000 Patientenjahre waren (20).

In Amerika ist die jährliche Durchführung einer low-dose-CT als Lungenkarzinom-Screening bei Risikopatienten empfohlen. Darunter sind Personen zu verstehen, die aktuell rauchen oder seit maximal 15 Jahren rauchfrei sind mit einer kumulativen Dosis von mindestens 30 PY, zwischen 55 und 74 Jahre alt und in einem guten Allgemeinzustand sind (21).

Aktuell wird dies in Deutschland nicht als Screeningmaßnahme in der allgemeinen Bevölkerung empfohlen (2), wengleich die Europäische Union seit 2017 ebenfalls empfiehlt, dass Mitgliedsstaaten in naher Zukunft ein low-dose-CT-Screening auf das Lungenkarzinom anbieten sollen (22). Laut S3-Leitlinie kann eine Früherkennung mittels low-dose-CT allerdings für asymptomatische Risikopersonen (Alter zwischen 55 und 74 Jahren, Raucheranamnese > 30PY und weniger als 15 Jahre Nikotinkarenz) an zertifizierten

Lungenkarzinomzentren durch ein multidisziplinäres Behandlungsteam mit begleitender Raucher-Entwöhnung empfohlen werden (2).

Die Auswirkungen einer low-dose-CT auf die Gesundheit der Menschen bei einer Etablierung als Screening sind noch nicht vollständig erforscht (23). Die Strahlenexposition einer CT – im Durchschnitt 5 mSv (2) – ist bereits mit einem Gesundheitsrisiko verbunden (24). Vor allem aber tragen die Rate an falsch positiven Ergebnissen (2,25) und das damit verbundene Komplikationsrisiko bei weitergehender Abklärung suspekter Befunde zu einem kritischen Hinterfragen des Einsatzes einer low-dose-CT als Lungenkarzinomscreening bei.

Eine Übertragung der Ergebnisse des NLST auf Deutschland ergab, dass bei vier von 1000 gescreenten Personen ein Lungenkarzinomtod hätte verhindert werden können, während allerdings eine Person eine tödliche Komplikation durch weitergehende Diagnostik nach unklarem CT-Befund erleiden würde. Insgesamt würden 13 von 1000 teilnehmenden Patienten ernsthafte Komplikationen durch weiterführende invasive Diagnostik, wie Bronchoskopie, Mediastinoskopie oder Biopsie erleiden (26). Hierbei muss weiter beachtet werden, dass alle Patienten, die in dem NLST eingeschlossen und behandelt wurden, an spezialisierten Zentren betreut wurden. Insofern ist davon auszugehen, dass Komplikationsraten und Ergebnisse an nicht spezialisierten Zentren von diesen Ergebnissen nochmals abweichen würden (2).

2.4.2 Screening mittels Röntgen-Thorax-Übersichtsaufnahme

Ein Screening mittels jährlicher Röntgenübersichtsaufnahme wird laut aktueller Leitlinie nicht empfohlen (2).

Hinweise auf ein Lungenkarzinom im Röntgenbild können ein Rundherd, eine Raumforderung, eine Mediastinalverbreiterung, eine Atelektase oder ein Pleuraerguss sein (2).

In Amerika wurde im Zeitraum von 1993 bis 2001 im Rahmen der größten randomisiert-kontrollierten Studie Prostate, Lung, Colorectal and Ovarian Randomized Trial (PLCO Cancer Screening Trial) untersucht, ob es zu einer signifikanten Mortalitätsreduktion von Lungenkarzinomen durch ein jährliches anterior-posteriore Röntgen-Thorax-Screening kommt (27). Insgesamt wurden hierbei 154.901 Patienten zwischen 55 und 74 Jahren eingeschlossen und in zwei Gruppen eingeteilt: Eine Gruppe erhielt für vier Jahre ein jährliches Röntgen-Thorax-Screening, die zweite Gruppe erhielt nur die normalen Vorsorgeuntersuchungen beim Hausarzt. Hierbei wurde der Raucherstatus nicht

berücksichtigt. Der Studienphase schloss sich zusätzlich ein 13-jähriges Follow-up an. Es konnte hierbei keine Reduktion der Lungenkarzinommortalität durch ein Röntgen-Thorax-Screening festgestellt werden. In der Studie war allerdings auffällig, dass insbesondere Adenokarzinome im Röntgen-Thorax-Screening besser diagnostiziert werden konnten, was eventuell mit der häufigeren peripheren Lage dieses histologischen Subtyps zusammenhängen könnte (27).

Zusätzlich ist die Röntgenaufnahme mit einer Strahlenbelastung verbunden, die eine regelmäßige Wiederholung der Untersuchung als Screening kritisch hinterfragen lässt: Eine Thoraxübersichtsaufnahme in zwei Ebenen hat eine Strahlendosis von 0,02mSv (2).

2.4.3 Screening durch Analyse von zirkulierenden Tumorzellen (Circulating tumor cells, CTC)

CTCs sind Zellen, die sich von dem Primärtumor ablösen und anschließend frei im Blut von Patienten zirkulieren (28). Sie spielen vor allem eine Rolle während der Metastasierung (29,30).

Die Erstbeschreibung ihrer Existenz erfolgte bereits 1869 (31); erst seit kurzem wird allerdings ihr eventueller Einsatz zur Früherkennung von Lungenkarzinomen und anderen Karzinomarten erforscht (32). Limitationen scheinen hierbei zu sein, dass vor allem in frühen Tumorstadien nur selten bzw. wenige CTCs isoliert werden können und in Bezug auf das Lungenkarzinom unterschiedlich viele CTCs, abhängig vom Lungenkarzinomsubtyp, zirkulieren. Bei Patienten, die an einem SCLC erkranken, scheinen bis zu 10 Mal mehr CTCs im Blut zu zirkulieren als bei Patienten, die an einem NSCLC erkrankt sind (28). Dies könnte mit der schnelleren Metastasierung von SCLCs zusammenhängen und widerspricht einem Einsatz als generelles Screening auf Lungenkarzinome (28) .

Aufgrund von eventueller Mikrometastasierung, die sich nicht durch Symptome bemerkbar macht und nicht durch Bildgebung oder andere Methoden nachweisbar ist, könnte eine Analyse der CTCs allerdings dennoch zu einer früheren Diagnosestellung führen (28).

Ein Vorteil der Analyse von CTCs zusätzlich zur herkömmlichen Diagnostik oder zu eventuellen Screeningmaßnahmen stellt die molekulare und genetische Charakterisierung des Tumors dar (33), die auch einen Ansatz zur Entwicklung neuer Therapieansätze darstellt (34).

Bisherige Studien, die die diagnostische Wertigkeit der CTC-Analyse zur Detektion von Lungenkarzinomen untersuchten, zeigten insgesamt eine Sensitivität von 30,4 % – 89 % und eine Spezifität von 84,1 % – 100 % (35).

Die Analyse von CTCs wird als Screening-Methode in Deutschland aktuell nicht empfohlen (2).

2.4.4 Bestimmung von Tumormarkern

Die NSE (Neuronenspezifische Enolase) beim SCLC sowie CEA (Carcinoembryonales Antigen) und CYFRA 21-1 (Cytokeratin-Fragment 21-1) beim NSCLC gelten als serologische Tumormarker (36).

Tumormarker können auch bei Patienten erhöht sein, die an einer benignen Lungenerkrankung leiden (37). Es konnte allerdings eine bessere Differenzierung zwischen benignen und malignen Lungenerkrankungen durch Hochsetzen der oberen Grenze der Normwerte für CEA und CYFRA 21-1 gezeigt werden: Eine Studie mit 655 Lungenkarzinompatienten und 237 Patienten, die an einer benignen Lungenerkrankung litten, zeigte eine bessere Spezifität durch Verdopplung der Normwertgrenze (für CEA > 6,4 ng/ml, für CYFRA 21-1 > 7 ng/ml), während sich die Sensitivität verschlechterte. Bei Positivität von beiden Tumormarkern war die Spezifität am höchsten: Bei üblicher Normwertgrenze lag sie bei 95 %, bei Verdopplung der Normwertgrenze sogar bei 99 % (37). Tumormarkerwerte sind umso höher, je weiter fortgeschritten die Erkrankung ist (37), sodass sie sich ebenfalls nur bedingt zur Frühdiagnostik von Lungenkarzinomen eignen.

Die aktuelle S3-Leitlinie empfiehlt die routinemäßige Bestimmung der Tumormarker weder zur Primär- oder Rezidivdiagnostik, noch ihren Einsatz als Screening aufgrund der eingeschränkten Sensitivität und Spezifität (2).

2.4.5 Screening mittels zellfreier DNA

Ein weiterer experimenteller Ansatz ist eine Frühdiagnostik auf Lungenkarzinom mittels zellfreier DNA. So werden DNA-Fragmente von Tumorzellen bezeichnet, die frei im peripheren Blut transportiert werden. Sie werden aus Serum oder Plasma isoliert und können durch Polymerasekettenreaktion (PCR) amplifiziert und analysiert werden (38). In diesen Fragmenten können dann gegebenenfalls DNA-Alterationen, wie beispielsweise Mutationen, Deletionen oder Hypermethylierungen bestimmter Onko- oder Tumorsuppressorgene nachgewiesen werden (38). Ihr Ursprung liegt wahrscheinlich in apoptotischen oder nekrotischen Zellen, aus denen durch Tumorstadium und erhöhten zellulären Umsatz in Tumoren DNA-Fragmente freigesetzt werden (39,40).

In einer bereits 1977 publizierten Arbeit wurde festgestellt, dass Karzinompatienten mehr zellfreie DNA in ihrem Blut aufweisen als gesunde Patienten und dass die Menge an zellfreier DNA noch weiter zunimmt, wenn ein Karzinompatient bereits an einer metastasierten Erkrankung leidet (39). Diese Methode wurde am häufigsten in Studien untersucht, die sich mit der Diagnostik von Mammakarzinom, kolorektalem Karzinom oder Lungenkarzinom beschäftigten (41).

Ein Hauptproblem dieser Methode ist, dass die Amplifikation der Genfragmente sehr teuer ist und nur in Speziallaboren durchgeführt werden kann, was einem Einsatz als Screening entgegenpricht (41).

Ein Screening auf Lungenkarzinom mittels zellfreier DNA wird aktuell nicht empfohlen (2), allerdings wird immer wieder über eine Analyse der zellfreien DNA in der weiteren Diagnostik als zusätzliche Methode diskutiert: Die Genotypisierung von Lungenkarzinomen ist insbesondere zur Therapieplanung wichtig, da Therapieregimen existieren, die gegen spezifische Genalterationen in Tumorzellen gerichtet sind, wie beispielsweise EGFR-Mutationen bei Adenokarzinomen (2). Durch die Tumorerogenität oder schlechte Erreichbarkeit des Primärtumors kann durch eine Biopsie in manchen Fällen die Genotypisierung nicht in ausreichendem Maß durchgeführt werden, sodass eine Analyse der zellfreien DNA im Blut – die noch dazu weniger invasiv ist als eine Biopsie – eine komplementäre Analyse darstellen könnte (39).

2.4.6 Nicht-invasive Diagnostik über Atemproben

Es wurden verschiedene Ansätze wissenschaftlich verfolgt, um ein nicht-invasives Screening auf Lungenkarzinom über Atemproben zu entwickeln, welches darüber hinaus – anders als die CT oder ein Röntgen-Thorax – ohne eine Strahlenbelastung funktionieren würde.

Die Atemluft von Patienten mit oder ohne Lungenkarzinom scheint sich zu unterscheiden: beispielsweise sind Interleukin-6 und Endothelin-1 bei Patienten, die an NSCLC erkrankt sind, in der Ausatemluft erhöht zu messen (42,43).

Grundlage für die Diagnostik durch Atemproben ist der Nachweis von Volatile Organic Compounds (VOCs, deutsch: flüchtige organische Verbindungen). Dies sind chemische Verbindungen, die den Zustand von Zellen reflektieren. Sie entstehen unter anderem durch Vorgänge im Körper wie beispielsweise Entzündungen, werden aber ebenso durch die Umwelt und durch das individuelle Mikrobiom eines Menschen beeinflusst (44). Ebenso wie

Entzündungen verursachen Tumorerkrankungen metabolische Veränderungen in Zellen, sodass Tumorzellen andere VOC-Profile aufweisen als gesunde Zellen. Die VOCs, die von den Tumorzellen produziert werden, können durch das Gewebe diffundieren. Über das Blut können sie durch den Körper transportiert und schließlich mit weiteren Körperflüssigkeiten wie Urin oder Schweiß ausgestoßen werden (45). Sie lassen sich offenbar auch in menschlichem Atem nachweisen (46).

Die Atemprobe eines Menschen enthält um die 3480 verschiedene VOCs (47,48), wobei hiervon die meisten nur in picomolaren Konzentrationen vorliegen (48). Insgesamt wurden bisher 24 VOCs als potentielle Lungenkarzinommarker identifiziert (49), wovon jedoch einige wohl auch mit Tabakrauch assoziiert sind (50,51).

Aktuell werden vor allem zwei Techniken verfolgt, um eine Diagnostik von Lungenkarzinomen über Atemproben zu ermöglichen: Die eine Technik beruht auf einer Analyse der Atemproben durch Gas Chromatographie Massenspektrometrie (GC-MS, Kopplung einer Gaschromatographie mit einer Massenspektrometrie), eine andere Technik setzt auf die Erstellung einer Art „Fingerabdruck“ der individuellen Atemluft eines Patienten über eine elektronische Nase (eNOSE) (46). Der wesentliche Unterschied beider Techniken liegt darin, dass durch GC-MS spezifische VOCs identifiziert und quantitativ nachgewiesen werden können, während durch eine elektronische Nase bisher nur ein individuelles Muster aus verschiedenen bekannten VOCs detektiert werden kann (46).

Bereits 1985 wurde eine Studie veröffentlicht, in der drei VOCs durch GC-MS identifiziert wurden, die bei 93 % der Lungenkarzinomproben auf ein Lungenkarzinom hinwiesen (52). Diese Studie wurde allerdings lediglich mit 23 Patienten, darunter nur neun Kontrollpatienten, durchgeführt.

1999 wurden 108 Patienten mit einer pathologischen Röntgen-Thorax-Aufnahme in eine Studie eingeschlossen, wovon 60 Patienten letztendlich ein Lungenkarzinom aufwiesen. Es konnten 22 VOCs durch GC-MS identifiziert werden, die sich bei Karzinom- und Kontrollpatienten unterschieden. Ihre Bestimmung im Stadium 1 der Karzinomerkrankung konnte diese mit einer Sensitivität von 100 % und einer Spezifität von 81,3 % nachweisen (53). Denselben Autoren gelang später mithilfe von neun VOCs durch GC-MS eine Identifikation von Atemproben von Karzinompatienten mit einer Sensitivität von 89,6 % und einer Spezifität von 82,9 %, unabhängig vom Stadium der Tumorerkrankung (53).

In einer Studie konnte ebenfalls gezeigt werden, dass die Konzentration von fünf VOCs in der Ausatemluft von Patienten nach chirurgischer Entfernung des Lungenkarzinoms deutlich niedriger war (54).

Immer mehr VOCs werden per GC-MS in der Ausatemluft von Patienten zur Identifikation von Lungenkarzinompatienten identifiziert (unter anderem (49,55)), wobei sich die verschiedenen VOCs sowohl in ihrer Spezifizierung als auch in ihrer Konzentration in den einzelnen Studien sehr stark unterscheiden (46).

Bereits 1982, also vor über 30 Jahren, wurde versucht, eine elektronische Nase zu entwickeln, die ebenso zuverlässig arbeitet wie eine canine Nase (56).

Bisher wurden verschiedene elektronische Nasen in Studien verwendet, um Lungenkarzinome diagnostizieren zu können. Beispiele sind die „Cyrano 300“, welche in einer Studie zu einer Identifikation von Ausatemluft von Lungenkarzinompatienten mit einer Sensitivität von 71,4 % und einer Spezifität von 91,9 % führte (57), oder die „NaNose“, die in einer anderen Studie nicht nur die Identifikation von Lungenkarzinomen, sondern auch die histologische Diskriminierung des Lungenkarzinoms ermöglichte (58).

Die verschiedenen Techniken zur Analyse von Atemluft sind aufgrund der unterschiedlichen Arten der Probengewinnung und -aufbewahrung, der unterschiedlichen Analyse der VOCs oder der VOC-Muster per eNose sowie der unterschiedlichen Anzahl der in Studien eingeschlossenen Patienten nur schwer vergleichbar (46,59), sodass bisher noch kein Einsatz einer Methode zur Analyse der Atemluft zur Lungenkarzinomdiagnostik zur Verfügung steht (2).

In einer Studie konnte allerdings die Kombination der Analyse von VOCs per GC-MS in Kombination mit einem Lungenkarzinomscreening durch CT die Sensitivität und Spezifität der Lungenkarzinomdiagnostik im Gegensatz zu einem Screening mit CT alleine verbessern (55).

2.5 Diagnostik

Da es in Deutschland kein Screening auf Lungenkarzinom gibt, wird diese Diagnose aufgrund typischer Symptome oder im Rahmen der Diagnostik aufgrund eines anderen Krankheitsbildes erstellt.

Die häufigsten Symptome, die den Patienten selbst auffallen, sind Husten, Luftnot, Brustschmerzen, Hämoptysen, Knochenschmerzen oder B-Symptomatik (Gewichtsverlust, Fieber, Nachtschweiß) (60).

Eine Besonderheit des Lungenkarzinoms stellen außerdem die paraneoplastischen Syndrome dar, die den Patienten dazu bewegen, einen Arzt aufzusuchen. Diese Syndrome bestehen bei ca. 10 % aller Patienten mit Lungenkarzinom; ihr Ausmaß korreliert nicht mit der Größe des Primärtumors. Beispiele hierfür sind das Syndrom der inadäquaten ADH-Sekretion (SIADH), eine chronische Anämie oder auch ein Cushing-Syndrom (2).

Bei klinischem Verdacht auf ein Lungenkarzinom wird zunächst eine Röntgen-Untersuchung im anterior-posterioren und im seitlichen Strahlengang durchgeführt (2). Hierbei kann sich das Lungenkarzinom direkt oder indirekt zeigen. Direkte Zeichen sind ein Rundherd oder eine Raumforderung, indirekte Zeichen sind ein Pleuraerguss, eine Atelektase oder eine Mediastinalverbreiterung (2). Bei positivem Befund oder bei negativem Befund mit jedoch stark verdächtiger Klinik sollte dann eine weitere Diagnostik mittels kontrastmittelverstärkter CT durchgeführt werden (2).

Die CT gibt vor der Biopsie oder weiteren chirurgischen Schritten eine Aussage über die Ausdehnung und die genaue Lage des Primärtumors sowie über eine eventuelle Metastasierung in Lymphknoten, Thorax- oder Oberbauchorgane, wie beispielsweise die Leber (36). Zeichen für einen gutartigen soliden Rundherd in der CT sind verschiedene Verkalkungsmuster. Sie können diffus, konzentrisch, laminar oder zentral sein oder eine disseminierte Verkalkungsart aufweisen, die als „Popcornmuster“ bezeichnet wird. Zeichen maligner solitärer Raumforderungen in der CT sind Spikulae, also füßchenförmige Ausläufer des Rundherdes, Gefäßzeichen, nekrotische Areale, umschriebene Pleuraverdickungen, pleurale Retraktionen, Inhomogenität oder Bronchuszeichen (2).

Die endgültige Diagnosesicherung sollte durch eine histologische Untersuchung des Primärtumors erfolgen, wobei in den meisten Fällen die Bronchoskopie das Mittel der Wahl darstellt (2). Limitation hierbei ist gegebenenfalls die Lage des Tumors, da der Zugang zu einem peripheren Tumor durch eine Bronchoskopie eventuell nicht möglich sein kann, sodass zur histologischen Differenzierung eine transthorakale Nadelaspiration (TTNA) nötig sein kann (2). Bei Kontraindikationen gegen Bronchoskopie oder transthorakale Nadelaspiration kann gegebenenfalls auch eine chirurgische Biopsieentnahme durchgeführt

werden (2). Die Biopsieentnahme erlaubt eine histologische Einteilung der Raumforderung zunächst in maligne/benigne und danach vor allem eine Abgrenzung von SCLC zu NSCLC (und gegebenenfalls deren Untergruppe) (2). Bei bronchoskopisch gewonnener Biopsie kann zudem noch eine bronchoalveoläre Lavage zur zytologischen Bewertung gewonnen werden und eine endobronchiale Ultraschalluntersuchung (EBUS) durchgeführt werden, um die Eindringtiefe des Tumors zu bewerten und den Zustand der mediastinalen Lymphknoten zu bewerten (2).

Nach Diagnosesicherung sollten sich Staging-Untersuchungen anschließen.

Zur Beurteilung der Ausdehnung des Primärtumors ist – wenn noch nicht geschehen zur Diagnosesicherung – eine kontrastmittelverstärkte CT von Thorax und Oberbauchorganen inklusive Leber und Nebennieren indiziert (2).

Die CT kann zur besseren Darstellung spezifischer Fragestellungen durch eine MRT oder Sonographie ergänzt werden, wobei bei einem Tumor, der an der Lungenspitze liegt und bei dem sich daher die Frage nach einer Infiltration des Plexus ergibt, eine MRT auf jeden Fall zur Beurteilung des Primärtumors eingesetzt werden sollte (2).

Wenn in der CT mediastinale Lymphknoten von mehr als 1 cm Durchmesser auffallen, sollte bei fehlendem Hinweis auf eine bereits fernmetastasierte Erkrankung zur besseren Differenzierung vergrößerter Lymphknoten (benigne reaktiv vs. maligne) eine FDG-PET-/CT durchgeführt werden. Durch den Einsatz von Fluor-18-Fluorodesoxyglukose wird ein vermehrter Glukoseumsatz, wie er in den meisten Tumorzellen besteht, bildmorphologisch nachgewiesen (61). Hierbei ist allerdings limitierend zu erwähnen, dass ebenfalls bei bestimmten Erkrankungen wie der Sarkoidose ein vermehrter Glukosestoffwechsel in vergrößerten Lymphknoten nachweisbar sein kann (2). Eine Aussage über die Entität der vergrößerten Lymphknoten ist für die Stadieneinteilung und die Therapieplanung essentiell (2,61).

Auffällige Lymphknoten in der FDG-PET/CT sollten dann vor der endgültigen Therapie pathologisch untersucht werden durch Gewinnung von Untersuchungsmaterial mittels geeigneter Methoden wie der Nadelbiopsie (2).

Zur Beurteilung einer eventuellen Fernmetastasierung gelten eine Ganzkörper-FDG-PET/CT und eine MRT des Schädels als Methoden der Wahl (2).

Nach kompletierter Diagnostik erfolgt eine Stadieneinteilung nach UICC (Union internationale contre le cancer). Diese Stadieneinteilung erlaubt die Einschätzung der Prognose und ist ausschlaggebend für die Wahl der Therapieverfahren (2).

2.6 Stadieneinteilung

Seit dem 1.1.2017 ist die Stadieneinteilung des Lungenkarzinoms nach IASLC/UICC 8 gültig.

2.6.1 TNM-Klassifikation nach UICC, 8. Auflage (62)

T steht für Tumor und beschreibt den Primärtumor. Die Bezeichnung „TX“ bedeutet, dass der Primärtumor nicht beurteilt werden kann. „T0“ wird angegeben, wenn es keinen Anhalt für einen Primärtumor gibt, während „T1-4“ die zunehmende Größe bzw. Ausdehnung des Primärtumors beschreiben. Die T1-Bezeichnung des Lungenkarzinoms wird nochmals in T1a-c unterteilt, die T2-Bezeichnung in T2a und T2b. „Tis“ steht für ein Carcinoma in situ – ein auf das Ursprungsgewebe begrenztes Karzinom, das nicht invasiv wächst und die Basalmembran noch nicht durchbrochen hat.

N beschreibt die regionären Lymphknoten. Die Bezeichnung „NX“ steht hier wieder für eine nicht mögliche Beurteilbarkeit der regionären Lymphknoten, „N0“ für metastasenfreie regionäre Lymphknoten und „N1-3“ für den zunehmenden Befall derselben. Als regionäre Lymphknoten beim Auftreten eines Lungenkarzinoms werden die intrathorakalen Lymphknoten, also die mediastinalen, die hilären, die lobären, die segmentalen und die subsegmentalen sowie die Skalenus- und supraclaviculären Lymphknoten bezeichnet.

M beschreibt die Fernmetastasen. Hierbei bedeutet „M0“, dass keine Fernmetastasen vorhanden sind und „M1“, dass Fernmetastasen vorhanden sind. In Bezug auf das Lungenkarzinom wird M1 nochmals in M1a-c eingeteilt, je nach Lokation der Fernmetastasen (62).

T

TX Primärtumor kann nicht beurteilt werden *oder* Nachweis von malignen Zellen im Sputum oder bei Bronchialspülungen, jedoch Tumor weder radiologisch noch bronchoskopisch sichtbar

T0 Kein Anhalt für Primärtumor

Tis Carcinoma in Situ

T1 Tumor 3cm oder weniger in größter Ausdehnung, umgeben von Lungengewebe oder viszeraler Pleura, kein bronchoskopischer Nachweis einer Infiltration eines Lappenbronchus (Hauptbronchus frei)

T1mi Minimal invasives Adenokarzinom

T1a Tumor 1cm oder weniger in größter Ausdehnung

T1b Tumor mehr als 1cm, aber nicht mehr als 2cm oder weniger in größter Ausdehnung

T1c Tumor mehr als 2cm aber nicht mehr als 3cm in größter Ausdehnung

T2 Tumor mehr als 3cm, aber nicht mehr als 5cm in größter Ausdehnung *oder* Tumor mit wenigstens einem der folgenden Kennzeichen:

- Tumor befällt Hauptbronchus, 2cm oder weiter distal der Carina ohne Befall der Carina
- Tumor infiltriert viszerale Pleura
- assoziierte Atelektase oder obstruktive Entzündung bis zum Hilus, entweder Teile der Lunge oder die ganze Lunge einnehmend

T2a Tumor mehr als 3cm, aber nicht mehr als 4cm in größter Ausdehnung

T2b Tumor mehr als 4cm, aber nicht mehr als 5cm in größter Ausdehnung

T3 Tumor mehr als 5cm, aber nicht mehr als 7cm in größter Ausdehnung *oder* Tumor mit direkter Infiltration einer der folgenden Strukturen: Pleura parietalis, Brustwand (eingeschlossen Sulcus superior-Tumoren), Nervus phrenicus, parietales Perikard; *oder* separate(r) Tumorknoten im selben Lappen wie der Primärtumor

T4 Tumor jeder Größe mit Infiltration wenigstens einer der folgenden Strukturen: Zwerchfell, Mediastinum, Herz, große Gefäße, Trachea, N. laryngeus recurrens, Ösophagus, Wirbelkörper, Carina; vom Primärtumor getrennte(r) Tumorknoten in einem anderen Lappen derselben Seite

N

NX Regionäre Lymphknoten können nicht beurteilt werden

N0 Keine regionären Lymphknotenmetastasen

N1 Metastase(n) in ipsilateralen peribronchialen und/oder ipsilateralen Hilus- oder intrapulmonalen Lymphknoten (einschließlich eines Befalls durch direkte Ausbreitung des Primärtumors)

N2 Metastase(n) in ipsilateralen mediastinalen und/oder subkarinalen Lymphknoten

N3 Metastase(n) in kontralateralen mediastinalen, kontralateralen Hilus-, ipsi- oder kontralateralen Skalenus- oder supraklavikulären Lymphknoten

M

M0 Keine Fernmetastasen

M1 Fernmetastasen

M1a Vom Primärtumor getrennte Tumorherde in einem kontralateralen Lungenlappen; Tumor mit Pleura- oder Perikardmetastasen oder malignem Pleura- oder Perikarderguss

M1b Eine extrathorakale Metastase in einem Organ

M1c Multiple extrathorakale Metastasen in einem oder multiplen Organen

2.6.2 Klassifikation der Tumorstadien

Stadium	T-Klassifikation	N-Klassifikation	M-Klassifikation
Okkultes Karzinom	TX	N0	M0
Stadium 0	Tis	N0	M0
Stadium IA	T1	N0	M0
Stadium IA1	T1mi	N0	M0
	T1a	N0	M0
Stadium IA2	T1b	N0	M0
Stadium IA3	T1c	N0	M0
Stadium IB	T2a	N0	M0
Stadium IIA	T2b	N0	M0
Stadium IIB	T1a-c, T2a,b	N1	M0
	T3	N0	M0
Stadium IIIA	T1a-c, T2a,b	N2	M0
	T3	N1	M0
	T4	N0,N1	M0
Stadium IIIB	T1a-c, T2a,b	N3	M0
	T3, T4	N2	M0
Stadium IIIC	T3, T4	N3	M0
Stadium IV	Jedes T	Jedes N	M1
Stadium IVA	Jedes T	Jedes N	M1a, M1b
Stadium IVB	Jedes T	Jedes N	M1c

Abbildung 5: Stadien-Einteilung Lungenkarzinom, übernommen aus: (62)

2.7 Hundenase

Das Riechorgan des Hundes ist ähnlich aufgebaut wie das menschliche Riechorgan. Es hat jedoch einige Besonderheiten, welche die bessere olfaktorische Wahrnehmung erklären. Hunde können 10.000 – 100.000-mal besser zwischen verschiedenen Gerüchen differenzieren als Menschen und flüchtige organische Verbindungen (volatile organic compounds, VOC) ab einer Konzentration von 1:1 Trillion VOCs identifizieren (63).

Die Hauptanteile des olfaktorischen Systems sind die Nase, die durch das Nasenseptum in eine rechte und eine linke Nasenhöhle eingeteilt wird, das olfaktorische Epithel mit seinen

Rezeptoren (olfactory receptors, OR), das vomeronasale Organ und der olfaktorische Bulbus (63).

Jede Nasenhöhle beinhaltet drei Nasenmuscheln (Conchae nasales), welche zu einer Vergrößerung der Schleimhautoberfläche beitragen und zusätzlich die Fließrichtung der inhaleden Luft beeinflussen können (63). Die Beschaffenheit und damit die Oberflächenvergrößerung der Schleimhaut variiert je nach Rasse. So hat z. B. ein deutscher Schäferhund eine Mukosa von ca. 200 cm², ein Cockerspaniel von ca. 67 cm² und im Vergleich dazu ein Mensch von ca. 5 cm² (64,65).

Beim Hund heißen die Conchae Nasoturbinale, Maxilloturbinale und Ethmoturbinale. In der Maxilloturbinale befindet sich größtenteils respiratorisches Epithel und nur wenige Sensoren von olfaktorischen Neuronen. Das olfaktorische Epithel befindet sich vor allem in den Ethmoturbinale und dem dorsalen Septum. Hier finden sich olfaktorische Rezeptorzellen (ORC) mit Zilien, an denen sich olfaktorische Rezeptoren (OR) befinden. Diese projizieren direkt in den olfaktorischen Bulbus, der hinter den Nasenhöhlen paarig angelegt ist. Von dort aus ziehen Axone zum olfaktorischen Kortex im Temporallappen (66).

Menschliche olfaktorische Rezeptorzellen haben ca. 25 Zilien pro ORC, während Hunde mehrere Hundert Zilien pro ORC besitzen, sodass Hunde viel kleinere Konzentrationen eines Moleküls in der Luft wahrnehmen können (63). Ein Hund exprimiert mehr als 220 Millionen olfaktorische Rezeptoren in seiner Nase, wobei eine ORC auf ihren Zilien nur eine einzige Art an olfaktorischen Rezeptoren exprimiert. Dies bedingt, dass die Geruchsintensität, die der Hund wahrnimmt, proportional ist zur Anzahl an ORC, die aktiviert wurden (63).

Olfaktorische Neurone des Hundes haben eine Lebenszeit von ca. 30 – 60 Tagen, regenerieren allerdings stets (67). Zusätzlich existieren Polymorphismen in über 800 Genen, welche die olfaktorischen Rezeptoren codieren (68,69), sodass die Anzahl und die Art an ORCs, die ein individueller Hund exprimiert, von der Rasse, der Genetik und dem Training abhängen (64). Die Erkennung eines bestimmten Geruchs ist von der Bindung des Geruchstoffes an einen bestimmten OR abhängig, sodass das individuelle Profil der Geruchsrezeptoren eines Hundes dafür verantwortlich ist, dass manche Hunde besser riechen als andere (70). Aufgrund der Polymorphismen in ihren Genen der olfaktorischen Rezeptoren und deren Anordnung scheinen Labrador Retriever und Deutsche Schäferhunde

besser als andere Rassen geeignet zu sein, um zur olfaktorischen Detektion eingesetzt zu werden (68).

Der olfaktorische Reiz wird am olfaktorischen Rezeptor G-Protein-gekoppelt wahrgenommen (63).

Eine Besonderheit des olfaktorischen Systems des Hundes, das vomeronasale Organ, liegt am ventrorostralen Teil des Nasenseptums. Seine Funktion ist noch nicht bis ins Detail verstanden (71). Es enthält Epithel, welches olfaktorische Rezeptoren beinhaltet, aber auch Epithel ohne olfaktorische Rezeptoren (72). Dieses scheint vor allem für die Detektion von Pheromonen zuständig zu sein (chemische Botenstoffe, die von einem Individuum abgegeben werden und bei einem anderen Individuum derselben Art eine spezifische Wirkung erzielen) und spielt wahrscheinlich eine Rolle für das soziale und das Reproduktionsverhalten eines Hundes (71,72).

Eine weitere Besonderheit des olfaktorischen Systems beim Hund im Gegensatz zum Menschen ist die unterschiedliche Verknüpfung des olfaktorischen Kortex mit dem limbischen System (73).

Das limbische System beinhaltet Gehirnstrukturen, die unter anderem das Riechvermögen, das Gedächtnis, das Verhalten und die Motivation regulieren. Es beinhaltet unter anderem den olfaktorischen Bulbus, die Amygdala, den Hippocampus und andere Strukturen (73). Größe und Funktion des limbischen Systems scheinen je nach Rasse zu variieren. Menschen haben einen großen Isokortex und ein verhältnismäßig kleines limbisches System, während bei Hunden beide Regionen hohe Volumina aufweisen (73). Im Vergleich bedeutet dies, dass Hunde ein größeres relatives Volumen des limbischen Systems im Gegensatz zum Menschen aufweisen. Dies könnte ebenfalls eine veränderte Wahrnehmung und einen veränderten Umgang mit olfaktorischen Reizen erklären (73).

2.8 Bisherige Studienlage zum Thema

Über das Phänomen, dass Hunde in der Lage sein könnten, menschliche Karzinome zu detektieren, wurde erstmals 1989 im „Lancet“ als Case Report berichtet. Damals wurde bei einer 44-jährigen Frau ein malignes Melanom an einer Stelle diagnostiziert, an der ihr Hund über mehrere Monate geschnüffelt hatte – sogar durch die Kleidung hindurch. Es handelte sich hierbei um ein Haustier, das zuvor weder konditioniert noch trainiert worden war (74).

2001 wurde über einen 66-jährigen Mann berichtet, dessen Labrador seine Nase ständig durch die Hose an eine Stelle des Beines des Mannes drückte. An exakt dieser Stelle wurde später ein Basalzell-Karzinom der Haut entdeckt. In beiden Fällen zeigten die Hunde nach Entfernung des Hautbefundes kein olfaktorisches Interesse mehr an den Stellen (75).

Diesen beiden Einzelfallbeschreibungen folgten Studien zur olfaktorischen Detektion von Hautkarzinomen, die den Verdacht, dass Hunde in der Lage sein könnten, Hautkarzinome zu finden, bestärkten – in einer Studie detektierte ein Hund ein Melanom bei einem Patienten mit zuvor unauffälligem histopathologischen Befund. Im weiteren Verlauf wurde das Melanom dann bestätigt (76).

Abgesehen von der Detektion von Melanomen wurde die olfaktorische Tumordetektion durch Hunde unter anderem auch anhand von Urinproben für das Blasenkarzinom (77), anhand von Atemproben für das Mammakarzinom (78), anhand von Gewebe- und Blutproben für das Ovarialkarzinom (79), anhand von Urinproben für das Prostatakarzinom (80), anhand von Atem- und Stuhlproben für das kolorektale Karzinom (81) und für das Lungenkarzinom untersucht.

In den Studien zur olfaktorischen Detektion von Lungenkarzinomen durch Spürhunde wurde als Material während der Konditionierungs- und während der Studienphase entweder Urin, Atemluft oder Lungengewebe benutzt (Tabelle 1). In allen Studien, die bisher zur olfaktorischen Detektion von Lungenkarzinomen durch Spürhunde publiziert wurden, konnte studienübergreifend eine Sensitivität von im Durchschnitt 78 % und eine Spezifität von im Durchschnitt 71,5 % erreicht werden (82).

Jahr	Material	Anzahl Studienteilnehmer = n	Sensitivität (%)	Spezifität (%)	Referenz
2006	Atem	143	99	99	(78)
2011	Atem	220	71	93	(83)
2014	Atem und Urin	93	Atemproben NSCLC: 70 Atemproben SCLC: 55,6 Urinproben NSCLC: 65,7 Urinproben SCLC: 90	Atemproben NSCLC: 8,3 Atemproben SCLC: 8,3 Urinproben NSCLC: 25 Urinproben SCLC: 25	(84)
2016	Atem (nur NSCLC)	122	78,6	34,4	(85)

Tabelle 1: Tabellarische Übersicht über alle bisher publizierten Studien zur olfaktorischen Detektion von Lungenkarzinomen durch Spürhunde

2006 konnten fünf Hunde, die als Haustier gehalten wurden, erfolgreich auf die Diskriminierung von Atemproben von Lungen- und Mammakarzinom-Patienten zu Kontrollproben konditioniert wurden. In dieser Studie von McCulloch et al. zeigten die Hunde in Bezug auf die Lungenkarzinomproben eine Sensitivität von 99 % und eine Spezifität von ebenfalls 99 %, wobei die Sensitivität und Spezifität in allen Stadien der Erkrankung annähernd gleich ausfiel (78). Es wurden insgesamt 55 Lungenkarzinompatienten und 88 gesunde Patienten in die Studie eingeschlossen.

Eine Studie von Ehmann et al. mit insgesamt 220 Patienten zeigte 2011 ein etwas schlechteres Ergebnis, wobei in dieser Studie ebenfalls untersucht wurde, ob die Ergebnisse der Hunde abhängig von dem Vorliegen einer chronisch obstruktiven Lungenerkrankung (chronic obstructive pulmonary disease COPD) oder vom Vorhandensein eines Tabak- oder Essensgeruchs sind. In dieser Studie konnten Spürhunde Atemproben von Lungenkarzinom-Patienten mit einer Sensitivität von 71 % und einer Spezifität von 93 % erfolgreich von Kontrollproben unterscheiden (83), wobei das Ergebnis nicht von den oben genannten Parametern abhängig zu sein schien.

Noch schlechtere Ergebnisse wurden in einer 2014 von Amundsen et al. publizierten Studie erreicht (84), in der die Hunde zwischen malignen und benignen Lungenerkrankungen

unterscheiden sollten, anstelle von Lungenkarzinompatienten und gesunden Kontrollpatienten. Es wurden insgesamt 93 Patienten in die Studie eingeschlossen, die alle mit Verdacht auf ein Lungenkarzinom in ein Krankenhaus eingewiesen wurden. Hier konnten Hunde Atemproben von Patienten, die an einem NSCLC erkrankt waren, von Atemproben von Patienten, die an einer benignen Lungenerkrankungen litten, mit einer Sensitivität von nur 70 % und einer Spezifität von nur 8,3 % unterscheiden. Ebenso konnten sie SCLCs von benignen Lungenerkrankungen mit einer Sensitivität von 55,6 % und einer Spezifität von 8,3 % differenzieren. Durch intensivierete Konditionierung gelang eine Verbesserung der Ergebnisse lediglich für Karzinompatienten, die an einem SCLC erkrankt waren. Hierbei ist allerdings zu beachten, dass die Proben, die den Hunden nach intensivierter Konditionierung präsentiert wurden, teilweise dieselben Proben waren, die den Hunden in der ersten Testphase präsentiert wurden (84). In dieser Studie wurde ebenfalls untersucht, ob die Unterscheidung von Proben von Lungenkarzinompatienten und Proben von Patienten, die an einer benignen Lungenerkrankung leiden, im Urin gelingt. Hier identifizierten die Hunde Proben von NSCLC-Patienten mit einer Sensitivität von 65,7 % und einer Spezifität von 25 % und die Proben von SCLC-Patienten mit einer Sensitivität von 90 % und einer Spezifität von 25 % (84).

Ebenfalls enttäuschende Ergebnisse zeigte 2016 die Studie von Hackner et al. (85) mit insgesamt 122 Patienten. Hier wurde versucht, eine Screeningsituation nachzuahmen: Im Gegensatz zu den anderen Studien mussten die Hunde dabei pro Testdurchgang nicht nur eine Karzinomprobe zwischen Kontrollproben unterscheiden – stattdessen variierte die Anzahl an Karzinomproben pro Durchgang, so wie es in einer Screeningsituation denkbar wäre. Zusätzlich wurden nur Raucher in die Studie eingeschlossen, um das Screening einer besonderen Risikopopulation zu bewerten. Hierbei identifizierten die Hunde Atemproben von Karzinompatienten mit einer Sensitivität von 78,6 % und einer Spezifität von 34,4 %. Zu erwähnen ist allerdings, dass in diese Studie ausschließlich Patienten, die an einem NSCLC erkrankt waren, eingeschlossen wurden.

Die Unterschiede in den Studienpopulationen (Anzahl der Patienten sowie Ein- und Ausschlusskriterien), im bewerteten Körpermaterial (Tumorgewebe (84), Urin (84), Atem (78,83–85)), in der Aufbewahrung der Proben, in der Konditionierung der Hunde und in der Art der Präsentation der Proben führen dazu, dass sich die Ergebnisse der bisher durchgeführten Studien zu diesem Thema schlecht vergleichen lassen.

Ein Screening auf Lungenkarzinom, das in einer nicht vorselektierten allgemeinen Population, zu jeder Zeit, unabhängig von vorheriger Nahrungsaufnahme, Tabakkonsum oder ähnlichem durchgeführt werden könnte, ist zur Prognoseverbesserung von Patienten dringend notwendig. Idealerweise sollte ein Test entwickelt werden, der sich in jeder einfachen Hausarztpraxis, also ohne großen Aufwand, ohne umfangreiche Vorbereitung und mit geringen finanziellen Mitteln durchführen lässt. Aufgrund der größtenteils ermutigenden Ergebnisse der oben genannten Studien scheint ein vielversprechender Ansatz zum Erreichen dieses Zieles ein Test zu sein, der analog der olfaktorischen Fähigkeiten von Spürhunden VOCs bei Lungenkarzinompatienten nachweisen kann. Ein solcher Test setzt voraus, dass Spürhunde tatsächlich Lungenkarzinompatienten in der oben beschriebenen Population mit zufriedenstellender Sensitivität und Spezifität identifizieren können.

Es ergab sich für diese Studie daher die Frage, ob ein konditionierter Spürhund Atem- sowie Urinproben von Patienten eines kommunalen Krankenhauses, die in Bezug auf Rauch-, Essens- oder sonstigen Gewohnheiten nicht vorselektiert wurden, mit einer zufriedenstellenden Sensitivität und Spezifität als Karzinom- oder Kontrollproben identifizieren kann?

3 Material und Methoden

3.1 Studiendesign

Es wurde eine prospektive klinische Studie mit insgesamt 432 Patienten durchgeführt. Der Ethikantrag wurde an die Ethikkommission der Landesärztekammer Hessen gestellt und durch sie freigegeben (Projektnummer FF20/2016). Der Ethikantrag ist im Anhang (Seite 100) zu finden.

Die Studie wurde von der Medizinischen Klinik II der Klinikum Darmstadt GmbH unter der Leitung von Prof. Dr. ----- zusammen mit Dr. ----- und Doktorandin Charlotte Feil sowie mithilfe von Prof. Dr. ----- aus dem DKFZ Heidelberg geplant, organisiert, durchgeführt und archiviert.

Es wurden insgesamt 864 Urin- und 864 Atemproben gesammelt, nämlich pro Patient je zwei Proben einer Art. Die Studie gliederte sich in eine Konditionierungsphase und eine Studienphase, wobei die Proben von n = 186 Patienten zur Konditionierung verwendet wurden und die Proben von n = 246 Patienten in der Studienphase verwendet wurden. Je eine Urin- und eine Atemprobe eines jeden Patienten wurden zur massenspektroskopischen Analyse am DKFZ Heidelberg im Anschluss an die hier beschriebene Studie aufbewahrt, deren Analyse kein Teil dieser Dissertationsarbeit ist.

Die Patienten wurden in zwei Patientengruppen aufgeteilt: Patienten mit bekanntem oder vermutetem Lungenkarzinom (= Karzinomkollektiv) und Patienten, die zum Zeitpunkt der Aufnahme in die Studie nicht an einer Tumorerkrankung litten und auch bis zum Zeitpunkt der Aufnahme in die Studie keine Tumoranamnese vorwiesen (= Kontrollkollektiv).

3.2 Studienteilnehmer

Die Studienteilnehmer waren

- 1) Patienten der Medizinischen Kliniken I - IV der Klinikum Darmstadt GmbH
- 2) Patienten des Lungenzentrums Darmstadt (Pneumologische Praxis -----
-----)
- 3) Freiwillige gesunde Personen, die sich im Studienlabor der Medizinischen Klinik II der Klinikum Darmstadt GmbH vorstellten

Alle Studienteilnehmer wurden im Zeitraum vom 19.05.2016 bis 08.08.2017 in die Studie inkludiert und durch folgende Ein- und Ausschlusskriterien in die Kollektive „Karzinom“ und „Kontrolle“ eingeteilt:

	Kollektiv „Karzinom“ (n = 77)	Kollektiv „Kontrolle“ (n = 355)
Einschlusskriterien	<ul style="list-style-type: none"> • einwilligungsfähig • 45.-80. Lebensjahr • Histologisch gesichertes Lungenkarzinom 	<ul style="list-style-type: none"> • einwilligungsfähig • 45.-80. Lebensjahr • unauffällige kardiopulmonale Auskultation
Ausschlusskriterien	<ul style="list-style-type: none"> • Komplette Remission des Lungenkarzinoms • Andere maligne Erkrankung aktuell oder während der vergangenen fünf Jahre • Tumore, die sich nicht auf das Bronchialgewebe, sondern auf andere lungennahe Gewebe beziehen (z.B. Pleurakarzinome) • Tumore der Lunge, die eine Metastase eines anderen Tumors sind 	<ul style="list-style-type: none"> • Tumoranamnese

Tabelle 2: Ein- und Ausschlusskriterien für alle Patienten in Konditionierungs- und Studienphase für Kollektiv „Karzinom“ und Kollektiv „Kontrolle“

Je nach Kollektiv wurden folgende Daten der Studienteilnehmer erfasst:

	Kollektiv „Karzinom“	Kollektiv „Kontrolle“
Gemeinsame Daten	<ul style="list-style-type: none"> • Name • Alter • Geschlecht • Rauchverhalten (ja/nein) • Alkoholverzehr (Regelmäßig ja/nein) • Harnwegsinfekt zum Zeitpunkt der Probenabgabe (ja/nein) 	
Spezielle Daten	<ul style="list-style-type: none"> • FEV1 • Tumormarker CEA, CYFRA 21-1, NSE • Ergebnis CT-Thorax (auffällig/ unauffällig) • Ergebnis Bronchoskopie (auffällig/ unauffällig) • Ergebnis Pathologie (auffällig/ unauffällig) • Art des Lungenkarzinoms (SCLC/ NSCLC mit Untergruppen/ andere) • TNM-Klassifikation 	

Tabelle 3: Erfasste Daten beider Kollektive

Allen Studienteilnehmern wurde ein Informationsblatt ausgehändigt, das die wesentlichen Informationen zur Studie, deren Ablauf sowie den Ablauf der Probensammlung beinhaltet (siehe Informationsblatt des Ethikantrags im Anhang). Die Studienteilnehmer wurden analog der Vorgaben der Ethikkommission informiert und über die Teilnahme aufgeklärt. Nach adäquater Bedenkzeit leisteten die Studienteilnehmer eine Unterschrift auf der Studienaufklärung und der Datenschutzerklärung, welche im Studienlabor der Medizinischen Klinik II der Klinikum Darmstadt GmbH aufgehoben wurden.

Entsprechend den Vorgaben der *Good Scientific Practice* werden die Daten für 10 Jahre nach Studienende gespeichert. Die Klinikum Darmstadt GmbH wird die Daten verwalten und sie nach Ablauf dieser Aufbewahrungspflicht löschen.

3.3 Durchgeführte Untersuchungen im Kollektiv „Karzinom“

3.3.1 Lungenfunktionsprüfung

Die Lungenfunktionsprüfung wurde direkt in der Klinikum Darmstadt GmbH weniger als fünf Tage vor der Bronchoskopie durchgeführt an einem Bodyplethysmographen „MasterScreen Body“ der Firma „Jaeger GmbH“ (Höchberg, Deutschland, nun Firma „Carefusion Germany GmbH“).

Für die Studie wurde lediglich der Wert der Einsekundenkapazität (FEV1) aufgenommen. Dieser wurde im Befund der Lungenfunktionsprüfung als Prozentwert vom Sollwert aufgeführt und genauso in das Datenprotokoll aufgenommen.

Hierbei wurde entsprechend der AWMF-Leitlinie zur Spirometrie (86) eine FEV1 > 60 % vom Sollwert als leichte Obstruktion, eine FEV1 von 40 – 60 % des Sollwerts als mittelschwere Obstruktion und eine FEV1 < 40 % des Sollwerts als schwere Obstruktion definiert. Als normale FEV1 galt eine FEV1 von > 80 % des Sollwerts.

3.3.2 Bronchoskopie

Alle Bronchoskopien wurden an der Klinikum Darmstadt GmbH als starre Bronchoskopien von einem der folgenden Untersucher durchgeführt: ----- oder Dr. med. -----.

Die Untersuchungen wurden mithilfe eines starren Bronchoskops der Firma „Karl Storz SE & Co. KG“ (Tuttlingen, Deutschland) mit einem Durchmesser von 12 mm und einer Länge von 33 cm durchgeführt sowie einer passenden Lichtquelle, ebenfalls von der Firma Karl Storz SE & Co. KG.

Alle Bronchoskopien wurden unter Sedierung mittels Propofol durchgeführt.

Im Datenprotokoll wurde eine Bronchoskopie als auffällig bzw. unauffällig in Bezug auf ein vermutetes Lungenkarzinom bewertet, wenn die Untersucher in der Bronchoskopie direkte oder indirekte Tumorzeichen darstellen konnten.

Hierbei versteht man unter einem direkten Tumorzeichen ein exophytisches Wachstum in den Bronchus hinein und unter indirekten Tumorzeichen entweder eine Komprimierung

eines Bronchus von außen oder eine Schleimhauthypertrophie. Beide indirekten Tumorzeichen könnten von einem Lungenkarzinom hervorgerufen werden, aber durchaus auch beispielsweise im Rahmen einer Pneumonie auftreten.

Bronchoskopien, bei denen weder indirekte noch direkte Tumorzeichen aufgefunden wurden, wurden im Datenprotokoll als unauffällig aufgeführt.

Bei jeder Bronchoskopie wurden Gewebeproben entnommen in Form von Stanzbiopsien des Lungengewebes und der angrenzenden Lymphknoten, sowie eine Spülzytologie.

Des Weiteren wurde die lokale Lymphknotensituation und gegebenenfalls die Ausbreitung des Primärtumors mithilfe eines EBUS bewertet.

3.3.3 Pathologie und Zytologie

Alle Gewebeproben wurden im MVZ Pathologie der Klinikum Darmstadt GmbH (Leitung: -----) untersucht und befundet.

Wenn es in den Gewebeproben keinen Anhalt für eine Malignität gab, so wurde die Pathologie im Datenprotokoll als „unauffällig“ aufgeführt. Dies schließt allerdings nicht aus, dass der Patient nicht trotzdem im Kollektiv „Karzinom“ verblieb – sofern eine Gewebeprobe einer Metastase das Vorliegen eines Lungenkarzinoms bewies, eine beweisende CT-gesteuerte Punktion vorgenommen wurde oder das Lungenkarzinom durch eine Operation bestätigt wurde.

Wenn es in den Gewebeproben einen Anhalt für eine Malignität gab, so wurde im Datenprotokoll die Art des Lungenkarzinoms aufgenommen. Ebenso wurde bei der histologischen Sicherung der Diagnose eines Lungenkarzinoms auf einem der oben beschriebenen anderen Wege verfahren.

Unterschieden wurde zwischen SCLC und NSCLC. Die Gruppe der NSCLC wurde außerdem unterteilt in Adenokarzinome, Plattenepithelkarzinome und großzellige Karzinome. Andere Arten von NSCLC, wie beispielsweise das Karzinoid oder das adenosquamöse Karzinom, wurden während der Studie nicht aufgefunden und daher auch nicht berücksichtigt.

3.3.4 CT

Alle Patienten mit gesichertem Lungenkarzinom erhielten eine CT-Thorax an der Klinikum Darmstadt GmbH. Dort wurden die Modelle der Firma „Toshiba Medical Systems GmbH“

(Neuss, Deutschland, nun „Canon Medical Systems Corporation“) „Prime Aquilion“ und „Aquilion“ verwendet.

Alle CTs wurden in der Radiologie des Krankenhauses befundet (Leitung: -----
-----).

Die CT wurde im Datenprotokoll als pathologisch dokumentiert, sofern sich ein Malignom-suspekter Rundherd oder eine Malignom-suspekte Raumforderung darstellte.

In allen anderen Fällen wurde die CT als nicht hinweisend auf ein Lungenkarzinom und damit im Rahmen der Studie als unauffällig dokumentiert.

3.3.5 Tumormarker

Weniger als fünf Tage vor der Bronchoskopie wurden bei der routinemäßigen Blutentnahme zusätzlich die Tumormarker CEA, CYFRA 21-1 und NSE bestimmt.

Die Bestimmung erfolgte im Zentrallabor der Klinikum Darmstadt GmbH (Leitung: -----
-----).

In diesem Labor gelten folgende Referenzwerte:

- CEA: < 5 ng/ml
- CYFRA 21-1: < 3,3 ng/ml
- NSE: 0,5 – 17,0 µg/l

Alle von den Referenzwerten abweichenden Werte wurden im Datenprotokoll als pathologisch geführt.

3.4 Proben

3.4.1 Probenaufbau

3.4.1.1 Urinproben

Für die Urinsammlung durch die Patienten wurden herkömmliche 125 ml-Urinbecher verwendet, die finale Lagerung erfolgte in 8,5 ml-Urin-Monovetten der Firma SARSTEDT AG & Co. (Sarstedtstr.1, 51588 Nümbrecht, Deutschland).

3.4.1.2 Atemproben

Die Atemproberöhrchen wurden im Rahmen der Studie durch die Doktorandin selbst hergestellt. Die Art der Herstellung wurde angelehnt an jene Proben, die in der Studie von Ehmann et al. (83) genutzt wurden. Eine Übersicht über das verwendete Material bietet Tabelle 4.

Es wurden bei der Firma Gaßner Glastechnik GmbH (Haderunstraße 4, 81375 München) Glasröhrchen von 120 mm Länge, einer Glasdicke von 1,8 mm und einem Durchmesser von 22 mm bestellt sowie pro Röhrchen zwei Silikonstopfen der Größe 17 mm x 23 mm x 30 mm. Die Probenröhrchen wurden mit Polypropylenwatte der Firma Asota Ges.m.b.H. (Schachenmayerstraße 22, A-4021 Linz, Österreich) gefüllt. Die Polypropylenwatte wurde durch die Firma Asota Ges.m.b.H. direkt nach ihrer Herstellung an die Firma CHT BEZEMA, CHT R.BREITLICH GmbH geschickt (Bismarckstraße 102, 72072 Tübingen). Dort wurde die eine Hälfte der Polypropylenwatte hydrophil und die andere Hälfte hydrophob silikonisiert. Anschließend wurde die Polypropylenwatte in je 2,5 cm x 6 cm große Streifen geschnitten (Abbildung 6) und je ein Streifen hydrophiler Watte sowie ein Streifen hydrophober Watte unter keimarmen und geruchsneutralen Bedingungen in je ein Glasröhrchen gesteckt (Abbildung 7). Dieses wurde anschließend durch Gummistopfen an beiden Seiten luft- und geruchsdicht verschlossen (Abbildung 8).

Die Atemproben wurden ausschließlich im Studienlabor der Medizinischen Klinik II der Klinikum Darmstadt GmbH (Raum U1.081, Gebäude 6, Grafenstraße 9, 64283 Darmstadt) und ausschließlich durch die Doktorandin hergestellt, um eine Geruchskontamination der Proben zu vermeiden und eine Einheitlichkeit zu gewährleisten.

Um möglichst geruchsneutrale und keimarme Bedingungen zu schaffen, wurden folgende Maßnahmen ergriffen: Die Arbeitsfläche wurde mit Tüchern („Cleanisept Wipes“) der Firma „Dr. Schumacher GmbH“ (Am Roggenfeld 3, 34323 Malsfeld, Deutschland) gereinigt und desinfiziert. Anschließend wurde sie mit Moltex-Tüchern abgedeckt (Unterlage Kranken-Molinea Plus 40 x 60 cm). Während der Herstellung der Proben wurden aseptische Handschuhe, ein Mundschutz, eine OP-Haube sowie ein steriler Kittel getragen.

Material	Firma	Adresse
Glasröhrchen mit Gummistopfen	Gaßner Glastechnik GmbH	Haderunstraße 4, 81375 München, Deutschland
Polypropylenwatte	Asota Ges.m.b.H.	Schachenmayerstraße 22, A-4021 Linz, Österreich
Silikonisierung der Watte	CHT BEZEMA CHT R. BREITLICH	Bismarckstraße 102, 72072 Tübingen, Deutschland

Tabelle 4: Liste des für die Atemproben verwendeten Materials

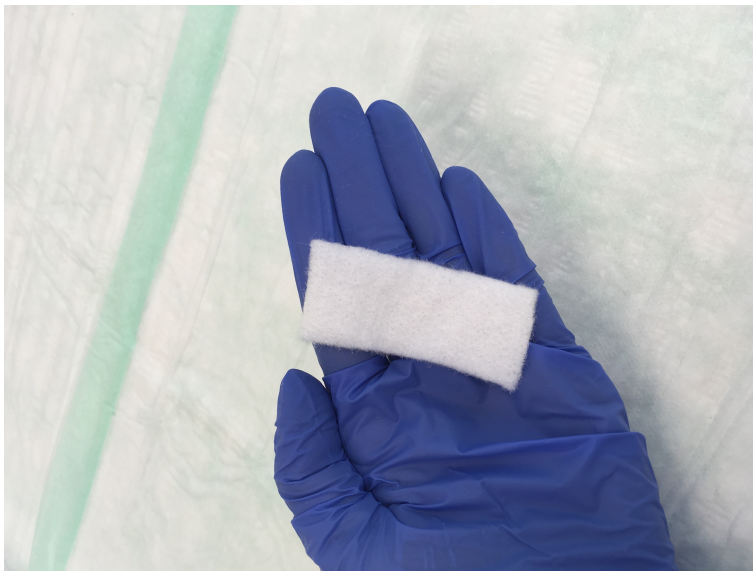


Abbildung 6: 2,5 cm x 6 cm große Polypropylenwattestreifen



Abbildung 7: Befüllen der Glasröhrchen mit der Polypropylenwatte



Abbildung 8: Fertiges Atemproberöhrchen

3.4.2 Probenentnahme

Es wurden von jedem Patienten zwei Urin- und zwei Atemproben asserviert. Für die vorliegende Dissertationsarbeit wurden hiervon nur je eine Urin- und eine Atemprobe jedes Patienten verwendet. Die jeweils andere Probe wurde für eine weitergehende Studie zur massenspektroskopischen Identifikation von VOC am DKFZ Heidelberg bestimmt.

Zur Gewinnung der Urinproben wurde den Patienten ein Urinbecher gereicht, den sie selbstständig mit Spontanurin befüllten und anschließend dem Studienteam abgaben. Anschließend wurden zwei 8,5 ml-Monovetten Urin durch das Studienteam abgezogen und der Rest des Urins verworfen.

Es wurde bewusst darauf verzichtet, den Urin als Mittelstrahlurin oder als ersten Morgenurin abzunehmen, um – wie oben beschrieben – die Fähigkeiten des Spürhundes in einer möglichst wenig vorselektierten Population zu testen.

Die Atemproben wurden unter Anweisung und Aufsicht eines Mitglieds des Studienteams gewonnen. Hierzu wurden stets aseptische Handschuhe beim Umgang mit den Probenröhrchen getragen, um eine Geruchskontamination durch ein Mitglied des Studienteams zu vermeiden.

Zunächst wurden die Gummistopfen auf beiden Seiten der Glasröhrchen abgenommen. Anschließend wurde das Probenröhrchen dem Probanden angereicht, und er wurde gebeten tief einzuatmen, dann das Röhrchen an den Mund zu nehmen, mit den Lippen zu umschließen und anschließend möglichst lange durch das Probenröhrchen auszuatmen (Abbildung 9).

Hierbei wurde darauf geachtet, dass der Proband nicht forciert durch das Probenröhrchen ausatmet, damit während des Ausatmens nicht die Watte aus dem Probenröhrchen gepustet wurde.

Wenn es nicht gelang, dass das Probenröhrchen sowohl vor als auch hinter der Watte durch die Atemluft einer Expiration beschlug, so wurde der Proband gebeten, das Prozedere zu wiederholen und erneut in das Probenröhrchen auszuatmen – so lange, bis genügend Atem die Watte durchströmt hatte, damit das Glas auch hinter der Watte beschlug. Es wurde also nicht von jedem Patienten eine bestimmte, gleich lange Zeit durch das Probenröhrchen ausgeatmet, sondern es wurde vielmehr darauf geachtet, dass das Röhrchen mit genügend

Atemluft durchströmt wurde, indem die Atemluft das Probenröhrchen auf vollständiger Länge zum Beschlagen bringt.

Am Ende der Probenabgabe wurde das Glasröhrchen wieder durch die Gummistopfen an beiden Seiten luftdicht verschlossen.



Abbildung 9: Darstellung der Handhabung der Atemproberöhrchen bei der Abgabe der Atemproben

3.4.3 Probenbeschriftung

Die Proben wurden direkt nach der Entnahme pseudonymisiert.

Auf allen Proben wurden ein Buchstabe und eine Zahl vermerkt. Die Urinproben wurden mit den Buchstaben „UL“ für „urine lung“ beschriftet, die Atemproben mit einem „B“ für „breath“. Den Buchstaben wurde eine Zahl angehängt, mit der die Proben durchnummeriert wurden.

Alle vier Proben eines Probanden erhielten demnach die gleiche Zahl, unterschieden sich jedoch je nach Probenart durch die Buchstaben.

Beispiel: Die Urinproben des 100. Probandes der Studie wurden mit „UL100“ beschriftet, die Atemproben desselben Probandes mit „B100“.

Die Zuordnung der pseudonymisierten Codes zu einem Patientennamen wurde in einer separaten Tabelle des Computers im Studienlabor der Medizinischen Klinik II gesichert, auf die ausschließlich ----- und Frau Feil Zugriff haben und welche der ärztlichen

Schweigepflicht unterliegt. Sie wird nicht an Dritte weitergegeben und nach 10 Jahren gelöscht.

3.4.4 Probenlagerung

Alle Proben wurden unmittelbar nach der Entnahme im Studienlabor in einem Kryokonservierer des Modells „Thermo Herafreeze HFU300T“ der Firma Thermo Fisher Scientific (275 Aiken Road, Asheville, NC 28804, United States) auf - 80° C nach Proben geordnet gelagert: Urin- und Atemproben wurden in getrennten Fächern aufbewahrt und Karzinom- und Kontrollproben ebenfalls getrennt voneinander.

Die Proben wurden bis zu dem Zeitpunkt des Transports an das DKFZ bzw. in das Hundezentrum ----- in dem Kryokonservierer gelagert.

3.4.5 Probentransport

Die Proben, die für die Hunde bestimmt waren, wurden unter Raumtemperatur in das Hundezentrum ----- nach ----- transportiert (-----).
-----).

Jeder Transport zu den Hunden wurde durch die Firma ----- durchgeführt (-----).
-----).

Während der Konditionierungsphase wurden zwei Transporte durchgeführt (am 07.11.2016 und am 19.12.2016) und während des Studienphase weitere zwei Transporte (08.06.2017 und 09.08.2017).

Die Proben, die für das DKFZ bestimmt waren, wurden mithilfe von Trockeneis transportiert, da sie im DKFZ ebenfalls auf -80° C bis zu ihrer Auswertung gekühlt wurden.

Das Trockeneis wurde bei der Firma ----- bestellt (-----).
-----). Der Transport wurde wiederum durch die Firma ----- durchgeführt (Adresse s.o.).

Der erste Transport fand am 27.07.2017 statt, der zweite Transport am 14.05.2018.

3.5 Spürhund

3.5.1 Rasse



Abbildung 10: Spürhund "Ännie"

Die Proben wurden von einem zum Zeitpunkt der Probenpräsentation sieben Jahre alten Hund der Rasse „Golden Retriever“ bewertet (Abbildung 10). Der Hund wird als Haustier gehalten, wurde allerdings schon vorher bereits auf die Erkennung von bestimmten Gerüchen konditioniert. Dies geschah sowohl im privaten Bereich zur Erziehung des Hundes, als auch im professionellen/hundesportlichen Bereich im Rahmen von Meisterschaften, bei denen der Hund bestimmte Gerüche in immer kleineren Dosierungen, wie beispielsweise Kamillentee, Zimt oder Kaffee erkennen musste.

3.6 Präsentation der Proben

Zur Präsentation der Proben wurde der Deckel der Urinproberöhrchen bzw. ein Gummistopfen an einem Ende der Atemproberöhrchen abgenommen; das andere Ende blieb verschlossen.

Auf jedes Probenröhrchen wurde ein Trichter gesetzt, der nur einmal verwendet wurde. Dadurch war gewährleistet, dass ein Hund mit seiner Schnauze nur den Trichter, nicht aber das Probenröhrchen berührt – eine Probe also nicht verunreinigt wird.

Anschließend wurden die präsentierten Proben in eine Edelstahlvorrichtung gesetzt, sodass der Hund im Stehen an den Proben schnüffeln konnte (Abbildung 11). Die Vorrichtungen für die einzelnen Proben wurden in einem ausreichenden Abstand angeordnet, um sicher zu gehen, dass der Hund immer nur eine Probe bewertet.

Die Proben wurden nur mit aseptischen Handschuhen angefasst, um auch hier eine Geruchskontamination zu vermeiden und darüber hinaus das Team vor einer Kontamination mit potenziell infektiösem Material zu schützen.

Urinproben und Atemproben wurden stets nur unter ihresgleichen präsentiert, eine Vermischung beider Probenarten fand weder in der Konditionierungs- noch in der Studienphase statt.



Abbildung 11: Probenvorrichtung

3.6.1 Konditionierungsphase

Die Konditionierungsphase wurde in zwei Phasen gegliedert und erstreckte sich über ein Jahr. Der Hund lebte während der Konditionierungs- und während der Studienphase in seinem üblichen Zuhause, in diesem Fall also gemeinsam mit seiner Hundeführerin.

Während der Konditionierungsphase wurde er im Durchschnitt ein- bis zweimal wöchentlich mittels der „Clicker-Methode“ mit positiver Verstärkung durch Fütterung (klassische Konditionierung) am Geruchsträger konditioniert. Die Konditionierung fand dabei bewusst nicht immer am gleichen Tag oder zur gleichen Tageszeit statt. Außerdem konnte sich der Hund hierbei immer frei bewegen, wurde also nicht an der Leine geführt.

Dabei wurde der Hund so konditioniert, dass die Nase an einem Einmal-Trichter, der auf dem Geruchsträger befestigt war, verharrte und über die sogenannte „Schnüffelatmung“ (bis zu 300 Atemzüge pro Minute) den Geruch der Geruchsprobe aufnahm, sodass er den „Geruch von Lungenkarzinomen“ erlernen konnte.

Während der ersten Phase wurde der Hund ausschließlich auf die Erkennung von Karzinomproben konditioniert, wofür dem Hund zwanzig Karzinomproben (je 20 Urin- und 20 Atemproben) zur Verfügung standen. Die Proben während der Konditionierungsphase wurden aufgrund der geringen Probenanzahl dem Hund auch mehrmals präsentiert.

Die Erkennung einer Karzinomprobe wurde durch die Ausführung eines „Clicks“ der Hundführerin als positive Verstärkung des unconditionierten Verhaltens angezeigt. Zunächst schloss sich zur Konditionierung des Clicks als positive Verstärkung jedem Click die Fütterung einer kleinen Belohnung an, damit der Hund zunächst eine ihm bekannte Belohnung für sein richtiges Verhalten erhielt. Als richtiges Verhalten wurde hierbei das Verweilen des Hundes mit seiner Schnauze in dem Trichter konditioniert.

In der zweiten Phase wurden dem Hund zunehmend mehr Kontrollproben zusätzlich zu einer Karzinomprobe präsentiert, bis letztendlich – so wie für die Studienphase vorgesehen – fünf Kontrollproben und eine Karzinomprobe gemeinsam präsentiert wurden.

Alle gerade nicht genutzten Proben wurden in einem herkömmlichen Gefrierschrank auf -20° C gekühlt, bis sie dem Hund präsentiert wurden.

Insgesamt wurden 36 Karzinomproben sowie 150 Kontrollproben (je Probenart) zur Konditionierung der Hunde eingesetzt.

Am Ende der Konditionierungsphase wurden diese Proben vernichtet.

3.6.2 Studienphase

Die Studienphase fand in den Räumlichkeiten des Hundetrainingszentrums ----- statt (-----). Bis zu ihrer Präsentation wurden dort alle Proben bei -20°C in dem identischen Gefrierschrank gelagert wie zuvor die Konditionierungsproben.

In der Studienphase wurde jede Probe nur ein einziges Mal präsentiert und bewertet. Die Position der Karzinomprobe wurde randomisiert, indem mit einem Würfel vor jedem Durchgang eine Position zwischen 1 bis 6 gewürfelt wurde.

Das Würfeln der Position wurde in einem separaten Raum durch eine zweite Person durchgeführt, die auch die Proben in der Vorrichtung platzierte – die Karzinomprobe an die gewürfelte Position und die Kontrollproben an alle übrigen Positionen. Nach der Platzierung der Proben verließ diese Person den Raum, konnte den Hund also bei seiner anschließenden Bewertung der Proben nicht beobachten. Die Studienphase fand also unter Verblindung von Hund und Hundeführerin statt.

Sobald alle Proben angeordnet waren und die Person den Raum verlassen hatte, durften Hund und Hundeführerin den Raum betreten und der Hund die Proben bewerten. Der Hund wurde hierbei nicht an der Leine geführt.

Wenn der Hund an einer Probe mit seiner Schnauze mehr als 5 Sekunden verharrte, erklärte die Hundeführerin durch das Wort „Anzeige“ den Durchgang für beendet und rief der zweiten Person die Position der Probe zu, die der Hund als Karzinomprobe identifiziert hatte. Die zweite Person beurteilte und dokumentierte so, ob der Hund die richtige Probe als Karzinomprobe identifiziert hatte, jedoch ohne den Hund und sein Verhalten sehen zu können. Das jeweilige Ergebnis des Hundes wurde zugeordnet zu dem Pseudonym der Probe in einer Excel-Tabelle dokumentiert.

Sofern der Hund die richtige Probe als Karzinomprobe identifiziert hatte, wurde ihm dies – wie in der Konditionierungsphase erlernt – mit einem Click angezeigt. Für einen Durchgang, also für die Bewertung von sechs Proben, benötigte der Hund im Durchschnitt ca. 10 Sekunden.

Insgesamt wurden während der Studienphase pro Probenart je 41 Karzinomproben und 205 Kontrollproben bewertet. Die Proben der Studienphase stammten von Probanden, die nicht an der Konditionierungsphase teilgenommen hatten. Damit sollte sichergestellt werden, dass der Hund den typischen „Karzinomgeruch“ richtig identifiziert und nicht den Geruch einer bereits bekannten Probe wiedererkennt.

Alle Proben, die während der Studienphase verwendet wurden, wurden sofort nachdem der Hund sie bewertet hatte umgehend vernichtet.

3.7 Auswertung der Ergebnisse

Es wurde eine zentrale Tabelle in Excel 2010 mit allen Daten der Probanden im Studienlabor der Medizinischen Klinik II der Klinikum Darmstadt GmbH geführt (Grafenstraße 9, 64283 Darmstadt, Gebäude 6, Raum U1.081).

Zur Dokumentation der Ergebnisse der Hunde wurde mit Excel 2010 zunächst eine Tabelle durch die Firma ----- angelegt, die nur die zu bewertenden Probenpseudonyme sowie eine Spalte für das Ergebnis der Hundeschnüffelei beinhaltete. Anschließend wurden die Ergebnisse dieser Tabelle in die zentrale Tabelle des Studienlabors der Medizinischen Klinik II der Klinikum Darmstadt GmbH implementiert.

Auf die zentrale Tabelle hatten ausschließlich ----- und Frau Feil Zugriff.

Die statistische Auswertung wurde mit Unterstützung von Frau ----- des IMBEI Mainz (Institut für Medizinische Biometrie, Epidemiologie und Informatik, Obere Zahlbacher Str. 69, 55131 Mainz) mit IBM SPSS Statistics Version 23 durchgeführt.

Hierbei wurden alle bewerteten Variablen bis auf das Alter auf eine Nominalskalierung reduziert.

Zur Beurteilung der statistischen Signifikanzen wurden Berechnungen mittels Chi-Quadrat Test nach Pearson, sowie mittels exaktem Test nach Fisher durchgeführt. Als statistisch signifikant wurden im Rahmen der Auswertung Ergebnisse gewertet, bei denen der p-Wert $\leq 0,05$ lag.

Die Beurteilung des Einflusses von Rauchstatus oder Zuordnung zu einem Kollektiv der Studie wurde über eine logistische Regressionsanalyse durchgeführt. Auch hier galt das gleiche Signifikanzniveau. Eine Korrektur für multiples Testen wurde nicht vorgenommen, so dass das Signifikanzniveau nur lokal für die einzelnen Tests eingehalten wird.

Patienten, bei denen Werte als fehlend eingetragen waren, wurden für statistische Berechnungen exkludiert.

4 Ergebnisse

4.1 Darstellung des Konditionierungskollektivs

Für die Konditionierungsphase wurden von insgesamt 186 Patienten Urin- und Atemproben gesammelt. Hiervon wurden $n = 36$ Patienten in das Karzinomkollektiv, und $n = 150$ Patienten in das Kontrollkollektiv eingeteilt, wobei die Einteilung gemäß der in Kapitel 3.2 aufgeführten Kriterien erfolgte.

Der Altersdurchschnitt lag zum Zeitpunkt der Probenentnahme bei 63,65 Jahren und lag in der Karzinomgruppe etwas höher (im Durchschnitt 66,72 Jahre) als in der Kontrollgruppe (im Durchschnitt 62,91 Jahre) (Tabelle 9).

In der Kontrollgruppe zeigte sich eine Geschlechtsverteilung von 74 Frauen (49,3 %) zu 76 Männern (50,6 %), in der Karzinomgruppe von 17 Frauen (47,2 %) zu 19 Männern (52,7 %); die Geschlechtsverteilung war somit in beiden Gruppen annähernd gleich ($p = 0,820$) (Abbildung 12).

Der Anteil an Nichtrauchern zu Rauchern unterschied sich im Kontroll- und im Karzinomkollektiv ($p = 0,010$), und war im Kontrollkollektiv größer als im Karzinomkollektiv (Abbildung 14).

In der Karzinomgruppe fand sich folgende Verteilung der Tumorentitäten: 47,22 % Adenokarzinome, 30,56 % Plattenepithelkarzinome und 22,22 % SCLC (Abbildung 16).

Am häufigsten war das UICC-Stadium 4 vertreten, gefolgt von UICC-Stadium 3. UICC-Stadium 1 und 2 machten insgesamt nur knapp 25 % aller Karzinomproben der Konditionierungsphase aus (Abbildung 18).

4.2 Darstellung des Studienkollektivs

In die Studienphase wurden 246 Patienten eingeschlossen, von denen jeweils Atem- und Urinproben gesammelt wurden und welche nicht bereits in die Konditionierungsphase eingeschlossen worden waren. Unter den 246 Patienten waren $n = 41$ Karzinompatienten und $n = 205$ Kontrollpatienten. Die Zuordnung in die Kollektive erfolgte nach den im Kapitel 3.2 beschriebenen Kriterien.

Das Durchschnittsalter im Studienkollektiv lag zum Zeitpunkt der Probenentnahme bei 62,36 Jahren, wobei auch im Studienkollektiv das Durchschnittsalter in der Karzinomgruppe höher

(im Durchschnitt 65,63 Jahre) als in der Kontrollgruppe lag (im Durchschnitt 61,71 Jahre) (Tabelle 9).

Der Anteil an Männern und Frauen in Karzinom- und Kontrollkollektiv unterschied sich nicht signifikant ($p = 0,145$): im Karzinomkollektiv wurden 29 Männer (70,7 %) und 12 Frauen (29,3 %) und im Kontrollkollektiv 120 Männer (58,5 %) und 85 Frauen (41,5 %) eingeschlossen (Abbildung 13). Besonders diskrepant war die Geschlechtsverteilung der Tumorentitäten Plattenepithel- und Adenokarzinom (Tabelle 5).

Tumorentität		Geschlecht		Gesamt
		männlich	weiblich	
Tumorentität	SCLC	5	5	10
	Plattenepithelkarzinom	10	2	12
	Adenokarzinom	13	5	18
	Großzelliges Karzinom	1	0	1
Gesamt		29	12	41

Tabelle 5: Verteilung der Geschlechter im Karzinomkollektiv der Studienphase ($p = 0,373$)

Im Studienkollektiv fanden sich insgesamt 67,1 % Nichtraucher und 32,9 % Raucher. Der Anteil an Nichtrauchern und Rauchern unterschied sich auch im Studienkollektiv in Karzinom- und Kontrollkollektiv ($p = 0,002$); die Diskrepanz der Anzahl an Rauchern und Nichtrauchern im Kontrollkollektiv war größer (146 Nichtraucher und 59 Raucher) als im Karzinomkollektiv (19 Nichtraucher und 22 Raucher) (Abbildung 15).

In Bezug auf die Tumorentitäten lässt sich feststellen, dass Patienten mit einem SCLC den höchsten Prozentsatz an Rauchern (70 %) aufwiesen (Tabelle 6), wobei der Unterschied an Rauchern und Nichtrauchern der einzelnen Tumorentitäten sich nicht signifikant unterschied ($p = 0,293$).

			Rauchstatus		Gesamt
			Nichtraucher	Raucher	
Tumorentität	SCLC	Anzahl	3	7	10
		% innerhalb der Tumorentität	30,0 %	70,0 %	100,0 %
	Plattenepithelkarzinom	Anzahl	5	7	12
		% innerhalb der Tumorentität	41,7 %	58,3 %	100,0 %
	Adenokarzinom	Anzahl	11	7	18
		% innerhalb der Tumorentität	61,1 %	38,9 %	100,0 %
	Großzelliges Karzinom	Anzahl	0	1	1
		% innerhalb der Tumorentität	0,0 %	100,0 %	100,0 %
	Gesamt	Anzahl	19	22	41
		%	46,3 %	53,7 %	100,0 %

Tabelle 6: Rauchstatus pro Tumorentität ($p = 0,293$)

Insgesamt gaben $n = 34$ von 246 Patienten im Studienkollektiv an, dass sie regelmäßig Alkohol konsumieren (Tabelle 7). Dies entspricht 13,8 %. Der Anteil an Patienten, die regelmäßig Alkohol konsumierten und der Anteil an jenen, die dies nicht taten unterschied sich nicht in Karzinom- und Kontrollkollektiv ($p = 0,869$). Im Kontrollkollektiv gaben 13,7 % der Patienten an, regelmäßig Alkohol zu trinken, während es im Karzinomkollektiv 14,6 % waren.

			kein regelmäßiger Alkoholkonsum	Regelmäßiger Alkoholkonsum	Gesamt
Kollektiv	Kontrolle	(Anzahl/ %)	177/ 86,3 %	28/ 13,7 %	205/ 100 %
	Karzinom	(Anzahl/ %)	35/ 85,4 %	6/ 14,6 %	41/ 100 %
Gesamt		(Anzahl/ %)	212/ 86,2 %	34/ 13,8 %	246/ 100 %

Tabelle 7: Angaben zum Alkoholkonsum in der Studienphase ($p = 0,869$)

2 % aller Patienten des Studienkollektivs hatten zum Zeitpunkt der Probenentnahme einen gesicherten Harnwegsinfekt (Tabelle 8): Auch hier war die Verteilung in Karzinom- und Kontrollgruppe nicht signifikant unterschiedlich ($p = 0,840$).

			kein Harnwegsinfekt	Harnwegsinfekt	Gesamt
Kollektiv	Kontrolle	(Anzahl/ %)	201/ 98,0 %	4/ 2,0 %	205/ 100 %
	Karzinom	(Anzahl/ %)	40/ 97,6 %	1/ 2,4 %	41/ 100 %
Gesamt		(Anzahl/ %)	241/ 98,0 %	5/ 2,0 %	246/ 100 %

Tabelle 8: Harnwegsinfekte bei Patienten der Studienphase ($p = 0,840$)

Die Tumorentitäten der Studienphase waren wie folgt verteilt: 18 entsprechend 43,90 % Adenokarzinome, 12 entsprechend 29,27 % Plattenepithelkarzinome, 10 entsprechend 24,39 % SCLC und eins entsprechend 2,44 % großzellige Karzinome (Abbildung 17).

Ähnlich wie in der Konditionierungsgruppe befanden sich auch in der Studiengruppe die meisten Lungenkarzinomerkrankungen im Stadium 4 (53,66 %), gefolgt von Stadium 3 (26,83 %). Karzinomerkrankungen im Stadium 1 waren nur mit 4,88 % vertreten, im Stadium 2 mit 14,63 % (Abbildung 19).

		Konditionierungsphase (n=186)		Studienphase (n=246)	
Kollektiv		Karzinom	Kontrolle	Karzinom	Kontrolle
Gesamtanzahl Patienten (n)		36	150	41	205
Geschlechtsverteilung (w/m)		17 / 19 ≙ 47,2 % / 52,7 %	74 / 76 ≙ 49,3 % / 50,6 %	12 / 29 ≙ 29,3 % / 70,7 %	85 / 120 ≙ 41,5 % / 58,5 %
Durchschnittsalter (Jahre)		66,72	62,91	65,63	61,71
Raucher/Nichtraucher		17 / 19 ≙ 47,2 % / 52,7 %	38 / 112 ≙ 25,3 % / 74,7 %	22 / 19 ≙ 53,7 % / 46,3 %	59 / 146 ≙ 28,8 % / 71,2 %
Harnwegsinfekt/ kein Harnwegsinfekt		1 / 35 ≙ 2,8 % / 97,2 %	7 / 143 ≙ 4,7 % / 95,3 %	1 / 40 ≙ 2,4 % / 97,6 %	4 / 201 ≙ 2,0 % / 98,0 %
Regelmäßiger Alkoholkonsum ja/nein		6 / 30 ≙ 16,7 % / 83,3 %	15 / 135 ≙ 10,0 % / 90,0 %	6 / 35 ≙ 14,6 % / 85,4 %	28 / 177 ≙ 13,7 % / 86,3 %
Tumorentitäten	SCLC	8 ≙ 22,2 %		10 ≙ 24,4 %	
	Plattenepithelkarzinom	11 ≙ 30,6 %		12 ≙ 29,3 %	
	Adenokarzinom	17 ≙ 47,2 %		18 ≙ 43,9 %	
	Großzelliges Karzinom	–		1 ≙ 2,4 %	
UICC-Stadium	Stadium I	3 ≙ 8,3 %		2 ≙ 4,9 %	
	Stadium II	6 ≙ 16,7 %		6 ≙ 14,6 %	
	Stadium III	13 ≙ 36,1 %		11 ≙ 26,8 %	
	Stadium IV	14 ≙ 38,9 %		22 ≙ 53,7 %	

Tabelle 9: Tabellarischer Vergleich der Kollektive in Konditionierungs- und Studienphase

4.3 Vergleich der Kollektive in Konditionierungs- und Studienphase

4.3.1 Vergleich der Geschlechtsverteilung in beiden Phasen

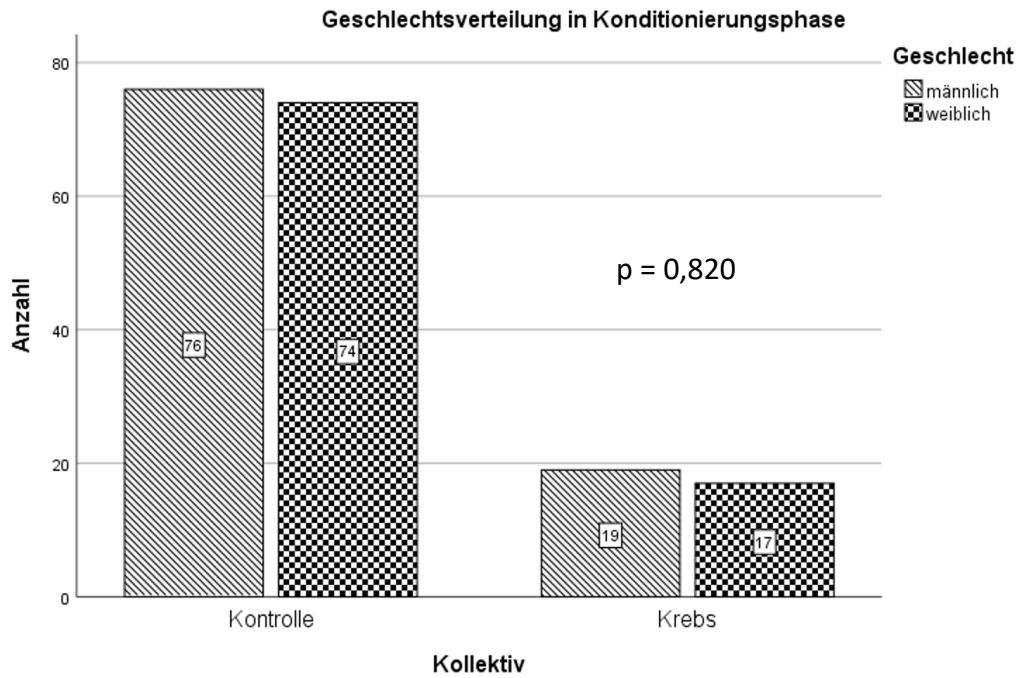


Abbildung 12: Geschlechtsverteilung in Konditionierungsphase (n = 186)

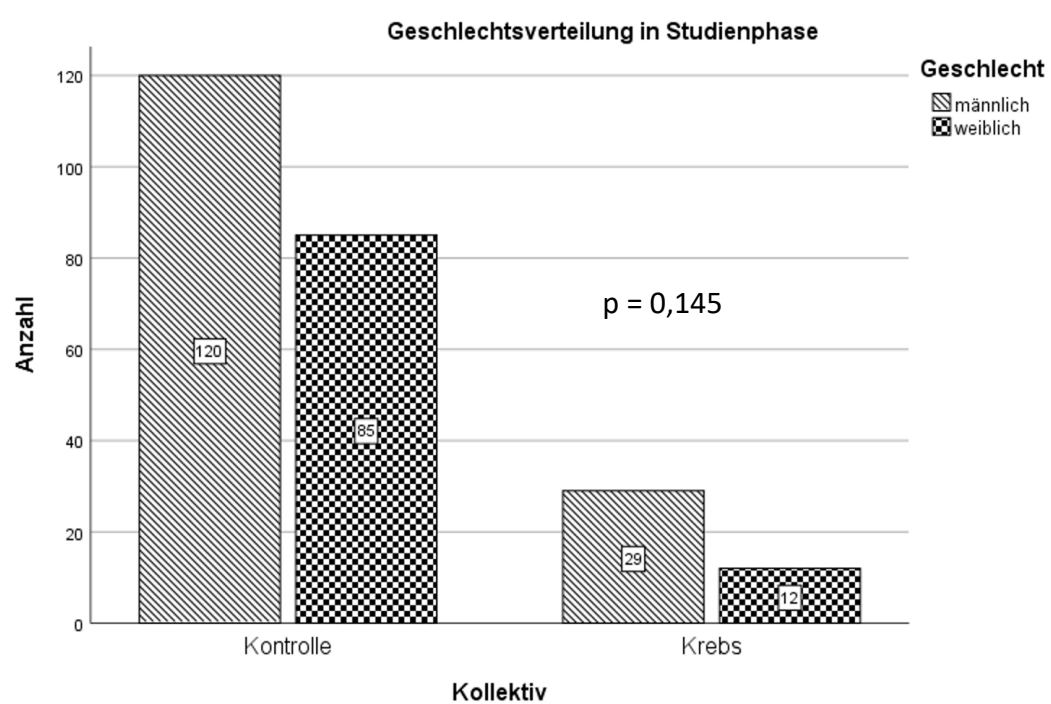


Abbildung 13: Geschlechtsverteilung in Studienphase (n = 246)

4.3.2 Vergleich der Verteilung des Rauchstatus in beiden Phasen

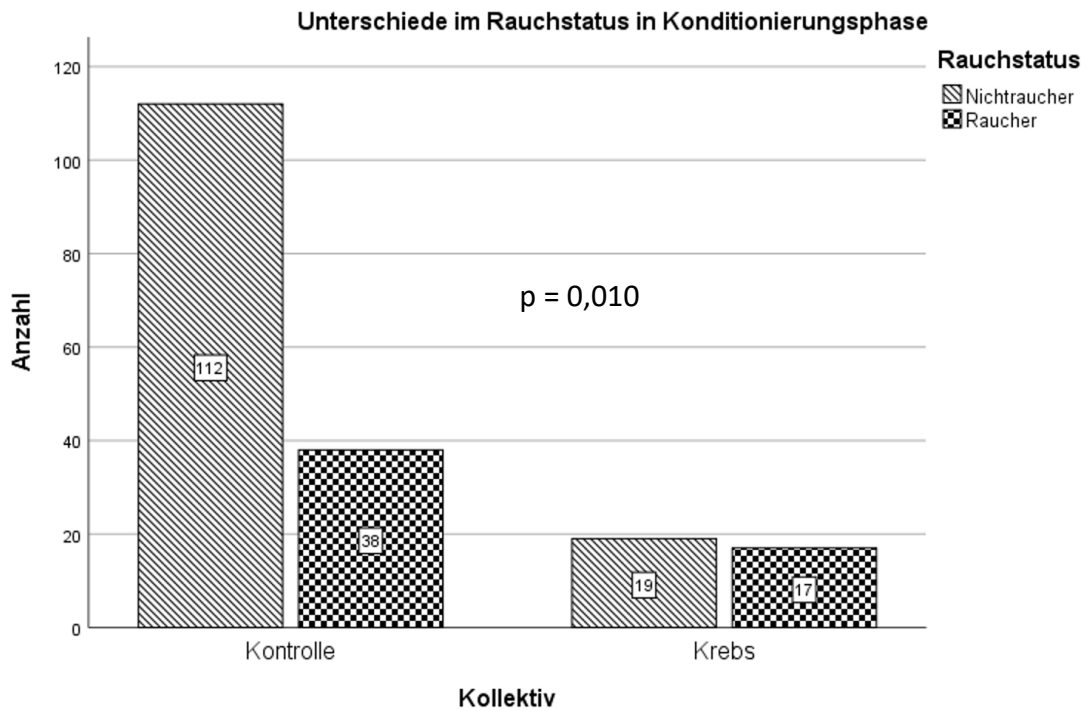


Abbildung 14: Unterschiede im Rauchstatus in der Konditionierungsphase (n = 186)

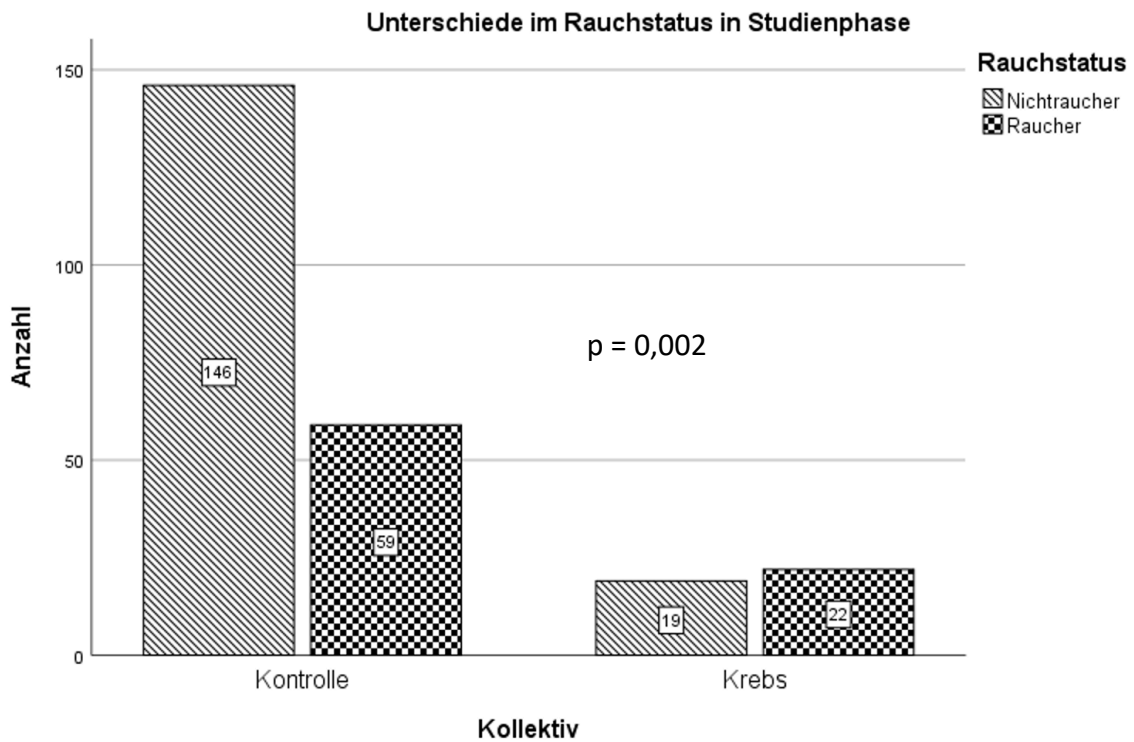


Abbildung 15: Unterschiede im Rauchstatus in der Studienphase (n = 246)

4.3.3 Vergleich der Verteilung der Tumorentitäten in beiden Phasen

Die Verteilung der Tumorentitäten in Konditionierungs- und Studienphase war annähernd gleich ($p = 1,000$).

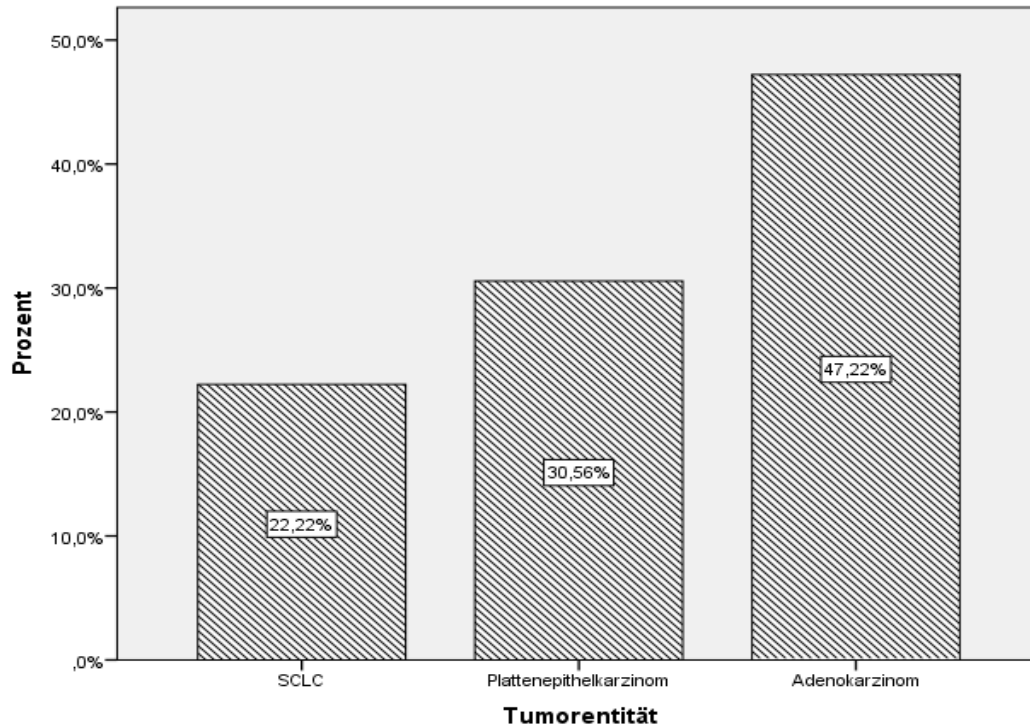


Abbildung 16: Verteilung der Tumorentitäten in der Konditionierungsphase ($n = 36$)

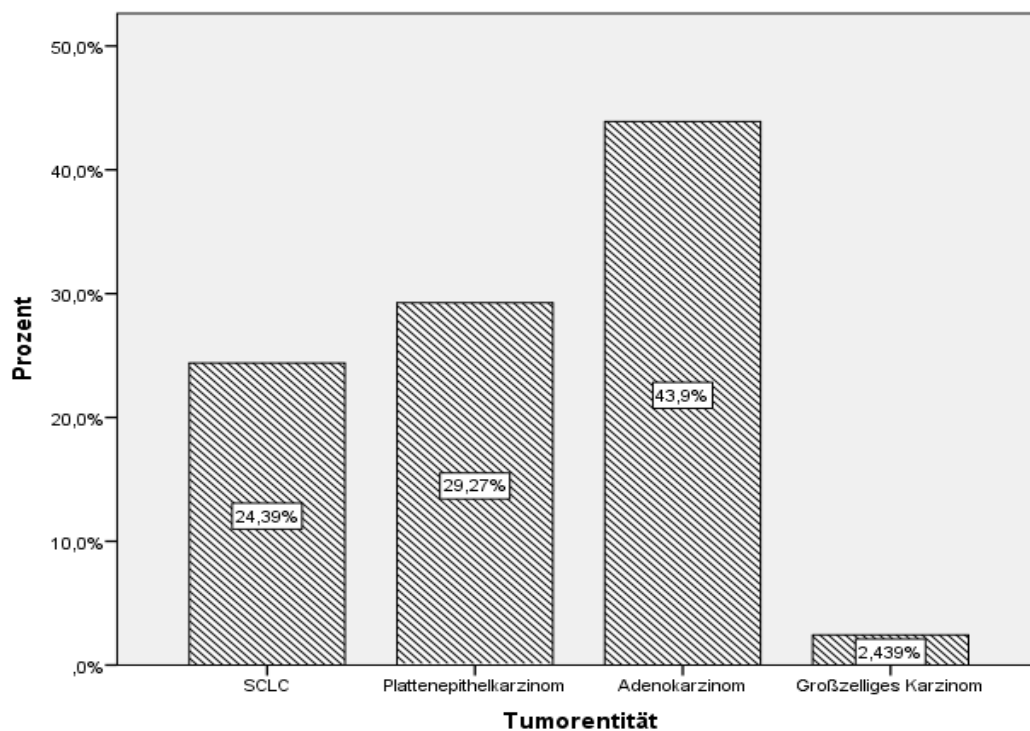


Abbildung 17: Verteilung der Tumorentitäten in der Studienphase ($n = 41$)

4.3.4 Vergleich der Verteilung der Tumorstadien nach UICC in beiden Phasen

Die Verteilung der UICC-Stadien in Konditionierungs- und Studienphase war annähernd gleich ($p = 0,621$).

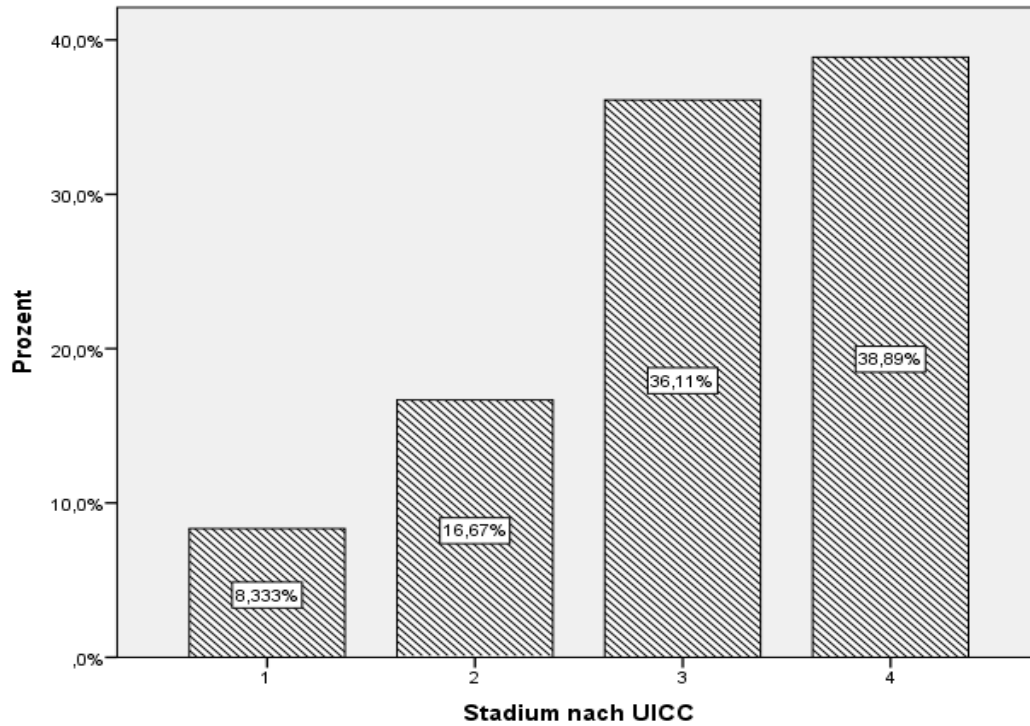


Abbildung 18: Verteilung der UICC-Stadien in der Konditionierungsphase ($n = 36$)

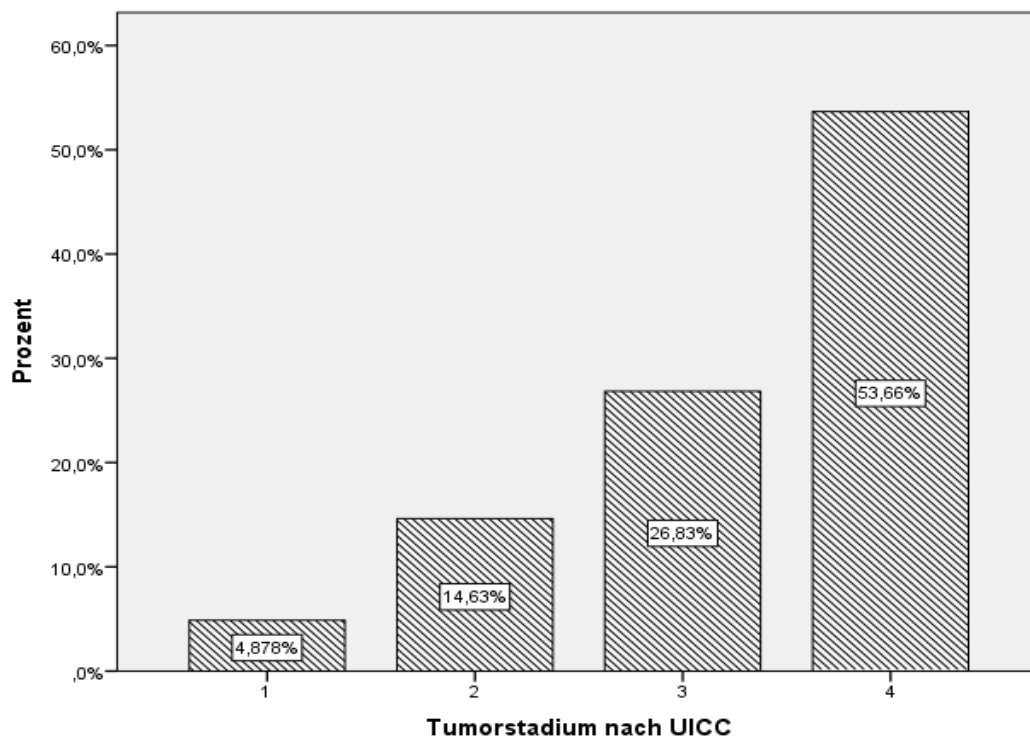


Abbildung 19: Verteilung der UICC-Stadien in der Studienphase ($n = 41$)

4.4 Ergebnisse der Bronchoskopie

In der Bronchoskopie wurde der Befund von n = 23 von insgesamt 41 Karzinompatienten als pathologisch eingestuft. Hieraus errechnet sich eine Sensitivität von 56,1 %.

Die niedrigste Sensitivität erreichte die Bronchoskopie bei der Diagnostik von Adenokarzinomen (Tabelle 10). Die Unterschiede in der Sensitivität der Bronchoskopie in Bezug auf die einzelnen Tumorentitäten sind nicht statistisch signifikant ($p = 0,061$).

Die Spezifität der Methode lässt sich nicht errechnen, da laut Studienprotokoll Patienten des Kontrollkollektives nicht dieser Untersuchung unterzogen wurden.

		Bronchoskopie		Gesamt
		unauffällig	pathologisch	
Tumorentität SCLC	Anzahl	3	7	10
	% innerhalb der Tumorentität	30,0 %	70,0 %	100,0 %
Plattenepithelkarzinom	Anzahl	3	9	12
	% innerhalb der Tumorentität	25,0 %	75,0 %	100,0 %
Adenokarzinom	Anzahl	12	6	18
	% innerhalb der Tumorentität	66,7 %	33,3 %	100,0 %
Großzelliges Karzinom	Anzahl	0	1	1
	% innerhalb der Tumorentität	0,0 %	100,0 %	100,0 %
Gesamt	Anzahl	18	23	41
	% innerhalb der Tumorentität	43,9 %	56,1 %	100,0 %

Tabelle 10: Bronchoskopie-Ergebnisse in Abhängigkeit der Tumorentität ($p = 0,061$)

4.5 Ergebnisse der CT

Die CT ergab bei allen Karzinompatienten der Studienphase einen pathologischen Befund, entsprechend einer Sensitivität von 100 %.

Die Spezifität der Detektion von BC in der CT lässt sich nicht errechnen, da laut Studienprotokoll bei Patienten des Kontrollkollektives keine CT durchgeführt wurde.

4.6 Unterschiede der Lungenfunktion

Laut Studienprotokoll sollte bei allen Karzinompatienten der Wert der FEV1 als Prozentwert des Sollwertes dokumentiert werden. Wie in Kapitel 3.1.1 beschrieben, wurden hierbei eine

FEV1 < 80 % des Sollwertes als leichte Obstruktion, eine FEV1 von 40-60 % des Sollwertes als mittelschwere Obstruktion und eine FEV1 < 40 % des Sollwertes als schwere Obstruktion definiert.

Abweichend vom Studienprotokoll konnte bei nur n = 35 der 41 Karzinompatienten die FEV1 ermittelt werden. Der Mittelwert betrug 62,77 %, also im Bereich der leichten Obstruktion, mit einer Standardabweichung von 23,031 (Tabelle 11).

	N	Minimum	Maximum	Mittelwert	Std.- Abweichung	Varianz
FEV1	35	25	113	62,77	23,031	530,417

Tabelle 11: FEV1 der Karzinompatienten im Studienkollektiv

Die meisten Patienten wiesen eine FEV1 einer mittelschweren Obstruktion auf. Bei n = 9 von 35 Patienten war die FEV1 nicht pathologisch, sprich > 80 % des Sollwerts.

Die durchschnittliche FEV1 war im UICC-Stadium 4 am schlechtesten mit 60,17 % des Sollwertes. Die besten FEV1-Werte hatten die Patienten mit einem BC im UICC-Stadium 2 (Tabelle 12; Abbildung 20).

Die einfaktorielle Varianzanalyse ergab für den Vergleich der Mittelwerte der FEV1 für die einzelnen UICC-Stadien ein nicht signifikantes Ergebnis mit $p = 0,849$.

	N	Minimum	Maximum	Mittelwert	Median	Std.-Abweichung
UICC Stadium 1	2	42	86	64,00	64,00	31,113
UICC Stadium 2	6	36	102	70,17	70,00	22,329
UICC Stadium 3	9	37	113	62,78	54,00	24,758
UICC Stadium 4	18	25	95	60,17	52,00	23,284

Tabelle 12: Werte der FEV1 in unterschiedlichen UICC-Stadien

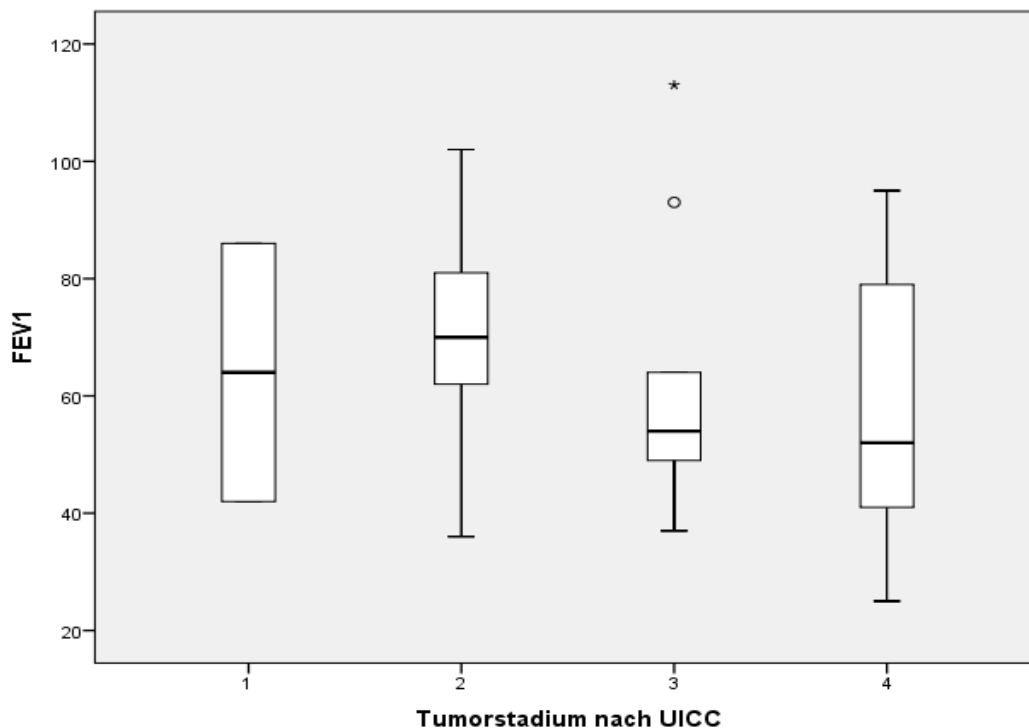


Abbildung 20: Vergleich der FEV1-Ergebnisse in unterschiedlichen UICC-Stadien

4.7 Ergebnisse der Tumormarker

Abweichend vom Studienprotokoll wurde bei nur $n = 30$ von 41 Karzinompatienten mindestens ein Tumormarker bestimmt. Von diesen $n = 30$ Patienten war bei 29 Patienten mindestens ein Tumormarker pathologisch, bei einem Patienten waren alle drei bestimmten Tumormarker nicht erhöht.

Cyfra 21-1 wurde bei $n = 24$ Patienten ermittelt, CEA bei $n = 26$ Patienten und NSE bei $n = 29$ Patienten. Alle Patienten, bei denen der entsprechende Tumormarker nicht bestimmt wurde, wurden aus der Statistik exkludiert.

Die höchste Sensitivität zur Detektion eines BC wurde in dieser Studie bei der Bestimmung der NSE (93,1 %) erreicht, gefolgt von Cyfra 21-1 (70,8 %) (Tabelle 13).

Die Spezifität der Bestimmung der Tumormarker lässt sich nicht berechnen, da bei Patienten des Kontrollkollektivs entsprechend des Studienprotokolls keine Tumormarker bestimmt wurden.

		normwertig	pathologisch
Cyfra 21-1 (n=24)	Anzahl	7	17
	% innerhalb des Tumormarkers	29,2 %	70,8 %
CEA (n=26)	Anzahl	9	17
	% innerhalb des Tumormarkers	34,6 %	65,4 %
NSE (n=29)	Anzahl	2	27
	% innerhalb des Tumormarkers	6,9 %	93,1 %

Tabelle 13: Ergebnis der Bestimmung der Tumormarker

Das Ergebnis der Bestimmung der Tumormarker die einzelnen Tumorentitäten betrachtend war in dieser Studie am häufigsten der Wert der NSE über alle Entitäten hinweg pathologisch (Abbildung 21).

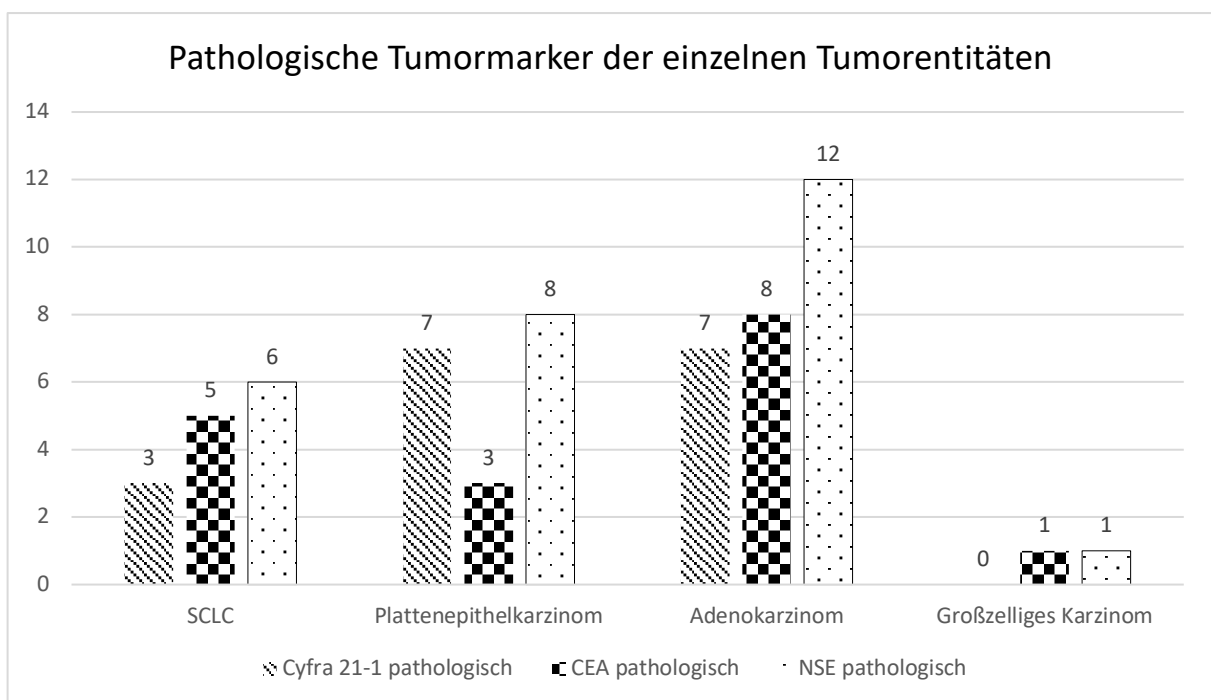


Abbildung 21: Pathologische Tumormarker der einzelnen Tumorentitäten

4.8 Ergebnisse des Atemtests

Um zu untersuchen, ob das Kollektiv (Karzinompatient oder Kontrollpatient) einen Einfluss auf die Bewertung der Atemproben durch den Hund hat, wurde eine logistische Regressionsanalyse durchgeführt. Diese ergab einen p-Wert von $p < 0,001$: Das Ergebnis des Hundes zwischen den Kollektiven unterscheidet sich statistisch signifikant.

Der konditionierte Hund hat 32 aus 41 Atemproben der Karzinompatienten richtig erkannt. Hieraus ergibt sich eine Sensitivität von 78,0 % und eine Spezifität von 95,6 % (Tabelle 14).

Kollektiv	Kontrolle	Anzahl	Ergebnis Atemtest		Gesamt
			negativ	positiv	
			196	9	205
		% innerhalb von Kollektiv	95,6 %	4,4 %	100,0 %
	Karzinom	Anzahl	9	32	41
		% innerhalb von Kollektiv	22,0 %	78,0 %	100,0 %

Tabelle 14: Sensitivität und Spezifität der Bewertung der Atemproben ($p < 0,001$)

Aufgeteilt nach Tumorentität konnte die beste Sensitivität für das SCLC erreicht werden (90%) (Tabelle 15). Die Sensitivität in der Gruppe der großzelligen Karzinome wurde aufgrund der niedrigen Anzahl eingeschlossener Patienten (tatsächlich nur ein Patient) als nicht verwertbar angesehen.

Für das Plattenepithelkarzinom errechnet sich eine Sensitivität von 75,0 % bei einer Anzahl eingeschlossener Patienten von $n = 12$. Die Sensitivität für die Detektion von Adenokarzinomen beträgt 72,2 % bei $n = 18$ Patienten.

Für die Detektion von NSCLCs in der Atemluft errechnet sich eine Sensitivität von 74,2 % und für die Detektion von SCLCs in der Atemluft eine Sensitivität von 90 %. Die Unterschiede in der Sensitivität zwischen den histologischen Subtypen sind jedoch nicht signifikant ($p = 0,710$).

		Ergebnis Atemtest		Gesamt	
		falsch	richtig		
Tumorentität	SCLC	Anzahl	1	9	10
		% innerhalb der Entität	10,0 %	90,0 %	100,0 %
	Plattenepithelkarzinom	Anzahl	3	9	12
		% innerhalb der Entität	25,0 %	75,0 %	100,0 %
	Adenokarzinom	Anzahl	5	13	18
		% innerhalb der Entität	27,8 %	72,2 %	100,0 %
Großzelliges Karzinom	Anzahl	0	1	1	
	% innerhalb der Entität	0,0 %	100,0 %	100,0 %	

Tabelle 15: Sensitivität der Bewertung der Atemproben nach Tumorentität ($p = 0,710$)

Die Sensitivität des Atemtests betrug im UICC- Stadium 1 100 %. Aufgrund der niedrigen Fallzahl von $n = 2$ Patienten in UICC-Stadium 1 wird diese als nicht verwertbar gewertet. Bei BC anderer UICC-Stadien war die Sensitivität größer, je weiter fortgeschritten die Karzinomerkrankung war: Die Sensitivität des Atemtests betrug im UICC-Stadium 2 66,7 %, im UICC-Stadium 3 72,7 % und im UICC-Stadium 4 81,8 % (Tabelle 16). Die Unterschiede in der Sensitivität zwischen den Stadien sind jedoch nicht signifikant ($p = 0,793$).

		Ergebnis Atemtest		Gesamt	
		falsch	richtig		
Tumorstadium nach UICC	1	Anzahl	0	2	2
		% innerhalb des Tumorstadiums	0,0 %	100,0 %	100,0 %
	2	Anzahl	2	4	6
		% innerhalb des Tumorstadiums	33,3 %	66,7 %	100,0 %
	3	Anzahl	3	8	11
		% innerhalb des Tumorstadiums	27,3 %	72,7 %	100,0 %
	4	Anzahl	4	18	22
		% innerhalb des Tumorstadiums	18,2 %	81,8 %	100,0 %

Tabelle 16: Sensitivität der Bewertung der Atemproben nach UICC-Stadium ($p = 0,793$)

Die Sensitivität bei Karzinompatienten mit einer normwertigen FEV1 lag bei 88,9 %. Bei Patienten mit schwerer Obstruktion betrug die Sensitivität 83,3 %. Die niedrigste Sensitivität wurde bei leichter Obstruktion erreicht (62,5 %) (Tabelle 17). Die Unterschiede in der Sensitivität des Atemtests in Abhängigkeit der FEV1 sind nicht statistisch signifikant ($p = 0,646$).

			Ergebnis Atemtest		Gesamt
			falsch	richtig	
FEV1	normwertig	Anzahl	1	8	9
		% innerhalb der Gruppe	11,1 %	88,9 %	100,0 %
	Leichte Obstruktion	Anzahl	3	5	8
		% innerhalb der Gruppe	37,5 %	62,5 %	100,0 %
	Mittelschwere Obstruktion	Anzahl	3	9	12
		% innerhalb der Gruppe	25,0 %	75,0 %	100,0 %
	Schwere Obstruktion	Anzahl	1	5	6
		% innerhalb der Gruppe	16,7 %	83,3 %	100,0 %

Tabelle 17: Ergebnis Atemtest in Abhängigkeit der FEV1 ($p = 0,646$)

4.8.1 Vergleich der Ergebnisse des Atemtests mit den Bronchoskopieergebnissen

Bezüglich des Bronchoskopiebefundes fand sich kein Unterschied in der Sensitivität des Atemtests ($p = 0,970$).

Bei 77,8 % der BC-Patienten, bei denen die Bronchoskopie unauffällig war, bewertete der konditionierte Hund die Atemproben positiv.

Bei 22,2 % der BC-Patienten, bei denen die Bronchoskopie unauffällig war, war auch das Atemtestergebnis des Hundes negativ.

Bei 21,7 % der BC-Patienten, bei denen die Bronchoskopie pathologisch war, bewertete der Hund die Atemprobe negativ (Tabelle 18).

			Ergebnis Atemtest		Gesamt
			negativ	positiv	
Bronchoskopie	unauffällig	Anzahl	4	14	18
		% aller unauffälligen Bronchoskopien	22,2 %	77,8 %	100,0 %
	pathologisch	Anzahl	5	18	23
		% aller pathologischen Bronchoskopien	21,7 %	78,3 %	100,0 %
Gesamt	Anzahl		9	32	41
	% innerhalb von Bronchoskopie		22,0 %	78,0 %	100,0 %

Tabelle 18: Vergleich der Ergebnisse aus Bronchoskopie und Atemtest ($p = 0,970$)

4.8.2 Logistische Regressionsanalyse zur Einschätzung des Einflusses von Rauchstatus, Alkoholkonsum und dem Vorliegen eines Harnwegsinfekts auf die Beurteilung der Atemproben

Zur Einschätzung des Einflusses des Rauchstatus der Patienten auf das Ergebnis des Hundes im Atemtest wurde eine logistische Regressionsanalyse durchgeführt. Das Ergebnis war mit einem p-Wert von $p = 0,169$ nicht signifikant. Aufgrund der niedrigen Fallzahlen von Patienten mit Harnwegsinfekt und Patienten, die regelmäßig Alkohol konsumieren, wurde diesbezüglich keine Regressionsanalyse durchgeführt.

4.9 Ergebnisse des Urintests

Analog zur Analyse der Atemtest-Ergebnisse wurde eine logistische Regressionsanalyse durchgeführt, um zu prüfen, ob das Vorliegen eines BC einen signifikanten Einfluss auf die Bewertung des Hundes bezüglich der Urinproben hat. Es errechnete sich hierfür ein p-Wert von $p = 0,006$: das Ergebnis des Hundes bei der Bewertung der Urinproben ist statistisch signifikant.

Der Hund hat 36 aus 41 Urinproben von Karzinompatienten richtig bewertet, woraus sich eine Sensitivität von 87,8 % errechnet. Die Spezifität des Urintests dieser Studie betrug 97,6 %.

			Ergebnis Urintest		Gesamt
			negativ	positiv	
Kollektiv	Kontrolle	Anzahl	200	5	205
		% innerhalb von Kollektiv	97,6 %	2,4 %	100,0 %
	Karzinom	Anzahl	5	36	41
		% innerhalb von Kollektiv	12,2 %	87,8 %	100,0 %

Tabelle 19: Sensitivität und Spezifität der Bewertung der Urinproben ($p < 0,001$)

Bezogen auf die Tumorentität betrug die Sensitivität des Urintests beim großzelligen Karzinom 100 %, sie wurde jedoch aufgrund der Fallzahl von $n = 1$ Patient mit großzelligem Karzinom als nicht verwertbar betrachtet. Bei der Bewertung von Urinproben von Plattenepithelkarzinompatienten erreichte der Hund eine Sensitivität von 91,7 %, bei der Bewertung von Urinproben von SCLC-Patienten lag die Sensitivität bei 90 % und bei der Bewertung von Urinproben von Adenokarzinompatienten bei 83,3 %. (Tabelle 20).

Die Sensitivität der Detektion von SCLC im Urin lag bei 90,0 %, die Sensitivität der Detektion von NSCLC im Urin lag bei 87,1 %. Die Unterschiede zwischen den einzelnen Tumorentitäten sind jedoch nicht signifikant ($p = 0,865$).

Tumorentität	SCLC	Anzahl	Ergebnis Urintest		Gesamt
			falsch	richtig	
		Anzahl	1	9	10
		% innerhalb der Entität	10,0 %	90,0 %	100,0 %
	Plattenepithelkarzinom	Anzahl	1	11	12
		% innerhalb der Entität	8,3 %	91,7 %	100,0 %
	Adenokarzinom	Anzahl	3	15	18
		% innerhalb der Entität	16,7 %	83,3 %	100,0 %
	Großzelliges Karzinom	Anzahl	0	1	1
		% innerhalb der Entität	0,0 %	100,0 %	100,0 %

Tabelle 20: Sensitivität der Bewertung der Urinproben nach Tumorentität ($p = 0,865$)

Das Ergebnis des Hundes bei der Beurteilung von Urinproben von Patienten mit einem BC im UICC-Stadium 1 wurde wie bei den Atemproben bei einer Fallzahl von $n = 2$ Patienten mit einem BC in diesem Stadium als nicht verwertbar betrachtet.

Der Hund beurteilte Urinproben von Patienten mit BC im UICC-Stadium 3 mit einer Sensitivität von 100 %. Urinproben von Patienten mit einem BC im UICC-Stadium 4 bewertete der Hund mit einer Sensitivität 86,4 %, gefolgt von UICC-Stadium 2 mit einer Sensitivität von 83,3 % (Tabelle 21). Die Unterschiede in der Sensitivität der unterschiedlichen Stadien sind jedoch nicht signifikant ($p = 0,167$).

Tumorstadium nach UICC	1	Anzahl	Ergebnis Urintest		Gesamt
			falsch	richtig	
		Anzahl	1	1	2
		% innerhalb des Stadiums	50,0 %	50,0 %	100,0 %
	2	Anzahl	1	5	6
		% innerhalb des Stadiums	16,7 %	83,3 %	100,0 %
	3	Anzahl	0	11	11
		% innerhalb des Stadiums	0,0 %	100,0 %	100,0 %
	4	Anzahl	3	19	22
		% innerhalb des Stadiums	13,6 %	86,4 %	100,0 %

Tabelle 21: Sensitivität der Bewertung der Urinproben nach UICC-Stadium ($p = 0,167$)

4.9.1 Vergleich der Ergebnisse des Urintests mit den Bronchoskopieergebnissen

Bezüglich des bronchoskopischen Befunde fand sich kein Unterschied in der Sensitivität des Urintests ($p = 0,363$).

Bei 17 Karzinompatienten (94,4 %), bei denen die Bronchoskopie unauffällig war, war der Urintest pathologisch. Bei einem BC-Patienten waren sowohl Bronchoskopie unauffällig, als auch Urintest negativ.

Bei 17,4 % der BC-Patienten, bei denen die Bronchoskopie einen pathologischen Befund ergab, bewertete der Hund die Urinprobe negativ (Tabelle 22).

		Ergebnis Urintest		Gesamt
		negativ	positiv	
Bronchoskopie unauffällig	Anzahl	1	17	18
	% aller unauffälligen Bronchoskopien	5,6 %	94,4 %	100,0 %
pathologisch	Anzahl	4	19	23
	% aller auffälligen Bronchoskopien	17,4 %	82,6 %	100,0 %
Gesamt	Anzahl	5	36	41
	% innerhalb von Bronchoskopie	12,2 %	87,8 %	100,0 %

Tabelle 22: Vergleich der Ergebnisse aus Bronchoskopie und Urintest ($p = 0,363$)

4.9.2 Logistische Regressionsanalyse zur Einschätzung des Einflusses von Rauchstatus, Alkoholkonsum und dem Vorliegen eines Harnwegsinfekts auf die Beurteilung der Urinproben

Zur Beurteilung des Einflusses des Rauchstatus auf das Ergebnis des Hundes bei der Bewertung der Urinproben wurde eine logistische Regressionsanalyse durchgeführt, die diesbezüglich kein statistisch signifikantes Ergebnis ergab ($p = 0,483$).

Aufgrund der niedrigen Fallzahlen an Patienten mit Harnwegsinfekt und Patienten, die regelmäßig Alkohol konsumieren, wurde eine logistische Regressionsanalyse zur Beurteilung des Einflusses des Vorliegens eines Harnwegsinfekts oder eines regelmäßigen Alkoholkonsums auf die Bewertung der Urinproben nicht durchgeführt.

4.10 Vergleich der Ergebnisse von Urin- und Atemtest nach Tumorentität und UICC-Stadium

Es konnten gleichviele SCLCs und großzellige Karzinome durch den Hund in Urin- und Atemproben detektiert werden. Plattenepithelkarzinome und Adenokarzinome wurden durch den Hund nicht signifikant häufiger in Urinproben detektiert (Abbildung 22).

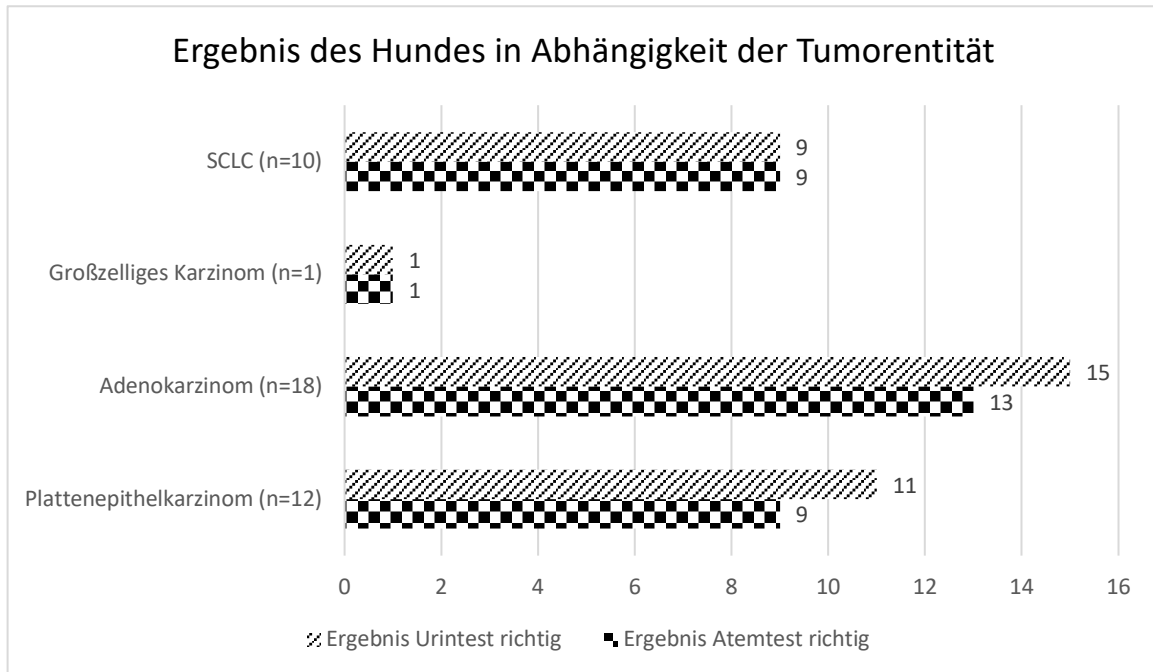


Abbildung 22: Ergebnis des Hundes in Abhängigkeit der Tumorentität

Bei BC in den UICC-Stadien 2-4 detektierte der Hund mehr BC in Urin-, als in Atemproben. BC im UICC-Stadium 1 wurden häufiger in Atem- als in Urinproben detektiert bei einer geringen Fallzahl von n = 2 Patienten mit BC im UICC-Stadium 1 (Abbildung 23).

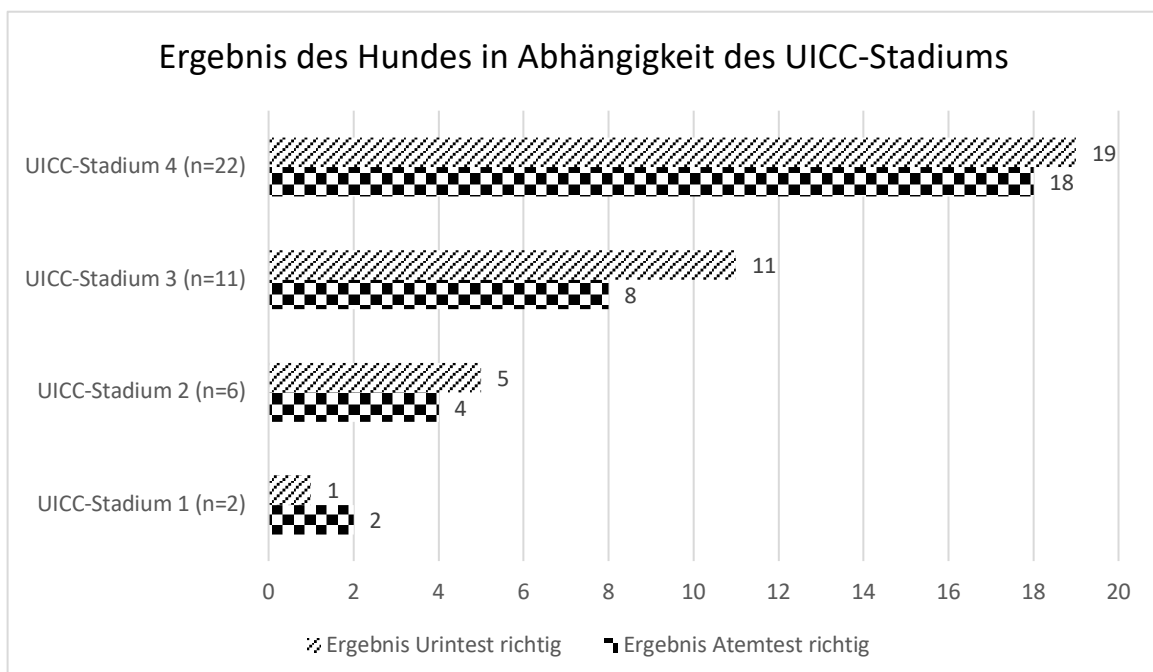


Abbildung 23: Ergebnis des Hundes in Abhängigkeit des UICC-Stadiums

4.11 Vergleich der Sensitivität der in dieser Studie angewandten diagnostischen Methoden in der Bronchialkarzinomdiagnostik (Abbildung 24)

Die CT erreichte in dieser Studie eine Sensitivität von 100 %. In der Bronchoskopie konnten BC mit einer Sensitivität von 56,1 % detektiert werden.

Die Sensitivität der Detektion von BC im Atemtest betrug 78 % während sie im Urintest 87,8 % betrug.

Die Sensitivität der Bestimmung der NSE betrug 93,1 %, der Bestimmung von Cyfra 21-1 70,8 % und der Bestimmung des CEA 65,4 %.

Ein Vergleich der Spezifitäten der diagnostischen Methoden konnte nicht durchgeführt werden, da nach dem Studienprotokoll nur im Atem- und Urintest Daten für Patienten des Kontrollkollektiv erhoben wurden.

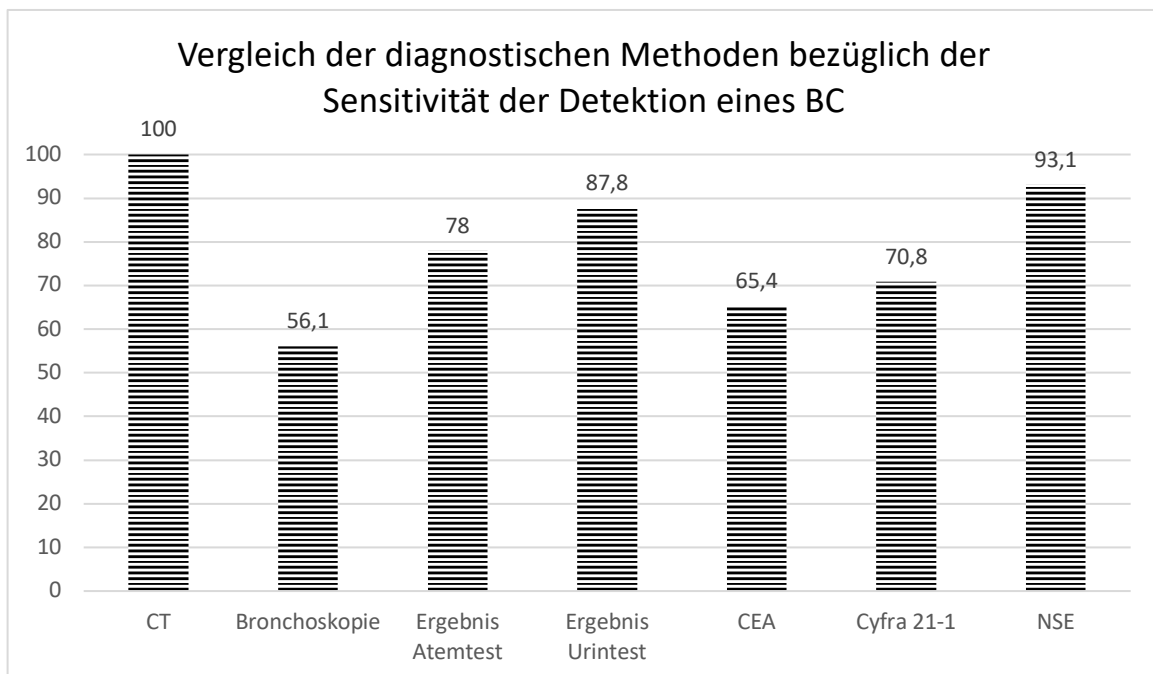


Abbildung 24: Graphische Darstellung des Vergleichs der Sensitivität der diagnostischen Methoden

5 Diskussion

5.1 Patientenkollektiv

Die epidemiologischen Daten der S3-Leitlinie zum Lungenkarzinom zeigen ein gering häufigeres Auftreten des Lungenkarzinoms bei Männern als bei Frauen (2). Dies bestätigt das Studienkollektiv mit $n = 149$ männlichen und $n = 97$ weiblichen Patienten.

Das mittlere Erkrankungsalter lag laut Robert Koch-Institut 2016 bei 66 Jahren für Männer und 64 Jahren für Frauen, wobei wie in Abbildung 1 (Altersspezifische Erkrankungsrate nach Geschlecht, Deutschland 2015-2016, siehe Seite 7) dargestellt, die Erkrankungsrate erst ab der Altersgruppe 35-39 Lebensjahren zunimmt und in der Altersgruppe von 80-84 Lebensjahren ihren Höhepunkt erreicht (1). Dementsprechend wurden die Ein- und Ausschlusskriterien des Studienkollektivs definiert, um sowohl als Karzinom- als auch als Kontrollpatienten nur Patienten der Altersgruppe einzuschließen, in der es zu einem gehäuften Auftreten von Neuerkrankungen an Lungenkarzinomen kommt und welche daher besonders von einem Screening auf Lungenkarzinome profitieren würden. In der vorliegenden Studie wurden deshalb ausschließlich Patienten zwischen 45 und 80 Lebensjahren eingeschlossen. Dabei wurde allerdings die Altersgruppe von 80-84 Lebensjahren, in der nach Aussage des Robert Koch-Instituts die meisten Neuerkrankungen zu finden sind, nur teilweise in die Studie integriert, sodass eine Erweiterung des Einschlussalters bis einschließlich des 85. Lebensjahres genauer die betroffene Altersgruppe abgedeckt hätte. Das Durchschnittsalter der Patienten im Karzinomkollektiv entspricht nichtsdestotrotz dem vom Robert Koch-Institut publiziertem Durchschnittsalter von Lungenkarzinompatienten: Es lag bei den Patienten dieser Studie bei 65,63.

Es wurde bewusst darauf verzichtet, nur Nichtraucher in die Studie einzuschließen, da ein Lungenkarzinomscreening für Nichtraucher ebenso wie für Raucher einsetzbar sein müsste und vor allem für Raucher eine besondere Bedeutung hätte. Dementsprechend wäre ein schlechteres Detektionsergebnis der Hunde in dieser Studie im Vergleich zu jenen vorherigen Studien in denen nur Raucher eingeschlossen wurden, ein Widerspruch zum Einsatz der olfaktorischen Detektion von Lungenkarzinomen als Screeningmethode. Dass der Rauchstatus die olfaktorische Detektion beeinflussen könnte ließ sich in dieser Studie nicht nachweisen, wobei die logistische Regressionsanalyse zur Beurteilung des Einflusses des Tabakkonsums auf die Detektionsfähigkeit der Hunde in dieser Studie ein nicht signifikantes Ergebnis ergab.

Da Entzündungen in einem Gewebe ebenfalls zu einer Veränderung der VOC führen können (87), wurde in dieser Studie das Vorhandensein eines Harnwegsinfekts als potentieller Störfaktor bei der olfaktorischen Detektion der Urinproben angesehen. Aufgrund der niedrigen Anzahl an Harnwegsinfekten im Studienkollektiv (5 Patienten, entsprechend 2 % aller Patienten) lässt sich allerdings in dieser Studie keine signifikante Aussage darüber treffen, ob ein Harnwegsinfekt die Detektion durch Hunde beeinflusst.

Manche Autoren beschreiben, dass die Menge an gelösten Substraten bzw. VOCs in der Ausatemluft von den Lungenvolumina abhängig sei (88). Die FEV1 gibt das Volumen an, welches forciert in der ersten Sekunde von einem Patienten ausgeatmet werden kann und lässt daher eine Aussage zu, inwieweit sich das Volumen unterscheidet, welches von unterschiedlichen Patienten in das Atemproberöhrchen ausgeatmet werden konnte. Um hierüber eine Aussage treffen zu können, wurde in dieser Studie die FEV1 der Patienten im Karzinomkollektiv dokumentiert. Leider konnte dies – anders als im Studienprotokoll vorgesehen – nur bei $n = 30$ der 41 Karzinompatienten ermittelt werden, was die Beurteilbarkeit des Einflusses der FEV1 in dieser Studie einschränkt.

Es konnte in der vorliegenden Studie allerdings nicht bestätigt werden, dass Hunde Proben von Patienten, welche durch Obstruktion nur geringere Mengen Luft pro Atemzug in ein Probenröhrchen pusten können – also jene mit einer eingeschränkten FEV1 – per se mit einer schlechteren Sensitivität bewerten als jene mit normwertiger FEV1. In dieser Studie war die Sensitivität der olfaktorischen Detektion bei Atemproben von Patienten mit normwertiger FEV1 nur wenig besser als jene bei Atemproben von Patienten mit schwerer Obstruktion (88,9 % vs. 83,3 %) (Tabelle 17: Ergebnis Atemtest in Abhängigkeit der FEV1). Allerdings ist einschränkend anzumerken, dass auch hier die niedrige Anzahl an Karzinompatienten im Studienkollektiv nur eine eingeschränkte Aussagekraft bei einem p -Wert von $p = 0,646$ bedingt. Hinzu kommt, dass die meisten Patienten eine mittelschwere Obstruktion aufwiesen, nämlich 12 Patienten und damit doppelt so viele wie jene mit einer schweren Obstruktion – und hier die Sensitivität mit 75,0 % doch deutlich niedriger lag als bei Patienten mit normwertiger FEV1. Den Einfluss eines niedrigen Flows durch die Atemproben und eine eventuell dadurch bedingte niedrigere Konzentration an VOCs sollte jedoch durch massenspektroskopische Analysen evaluiert werden, da die schlechtere Sensitivität in diesen Gruppen auch durch andere Einflussfaktoren bedingt sein könnte.

Obwohl die Bestimmung der Tumormarker laut aktueller S3-Leitlinie (2) weder zum Screening auf das Lungenkarzinom noch zur Primär- oder Rezidivdiagnostik routinemäßig durchgeführt werden soll, wurde sie zum Vergleich der diagnostischen Möglichkeiten bei allen BC-Patienten dieser Studie bestimmt. Leider wurde abweichend vom Studienprotokoll keine Bestimmung aller drei Tumormarker bei jedem Karzinompatienten durchgeführt, sodass man nur eine vorsichtige Aussage über die Sensitivität der Bestimmung der Tumormarker in dieser Studie treffen kann. Es ist allerdings zu erwähnen, dass die NSE bei 29 von $n = 41$ BC-Patienten dieser Studie bestimmt wurde und sie bei 93,1 % dieser Patienten einen pathologischen Wert aufwies. Im Gegensatz dazu war die Sensitivität der Bestimmung von Cyfra 21-1 mit 70,8 % pathologischen Werten unter den BC-Patienten und der CEA mit 65,4 % pathologischen Werten unter der BC-Patienten deutlich schlechter (siehe Tabelle 13: Ergebnis der Bestimmung der Tumormarker und Abbildung 24: Graphische Darstellung des Vergleichs der Sensitivität der diagnostischen Methoden).

5.2 Probenumgang und -aufbau

Der Aufbau und der Umgang mit den Proben hatten einen Einfluss auf die Detektion durch Hunde: Während der Aufbau von Urinproben aufgrund des Einsatzes standardisierter Urinröhrchen zumindest wenig Varianz aufweist, so existierte kein Standardprobenröhrchen zur Konservierung von Atemluft. In den bisher publizierten Studien wurden unterschiedliche Atemluftauffangsysteme entwickelt und verwendet. Die ideale Atemprobe sollte einfach zu beschaffen und einfach im Einsatz sein sowie verschiedene VOCs in ihrer tatsächlichen Konzentration und mit den ursprünglichen Geruchseigenschaften konservieren können.

Es wurde bisher nicht beschrieben, welche Art von Atemproben sich am Besten eignet, jedoch scheint die Quantität und Qualität der aufgefangenen Substrate vom Aufbau der Probe abhängig zu sein (89). In bisherigen Studien wurden sehr unterschiedliche Auffangsysteme für die Atemluft genutzt: In einer Studie eine Art „Tüte“, in welche die Probanden 100 – 200 ml Luft ausatmen mussten (81), die dann in Zipline-Tüten bei 4°C gelagert wurden. In einer anderen Studie wurde ein Atemfilter genutzt, durch den die Probanden dreimal forciert ausatmen mussten; später wurden die Atemproben verschlossen in Containern gelagert (84). In einer weiteren Studie wurde ähnlich wie in der vorliegenden Untersuchung silikonisierte Polypropylenwolle benutzt, durch die Probanden zwei- oder dreimal ausatmen mussten (78). Durch eine derartige Silikonisierung der Polypropylenwolle

wird eine Konservierung sowohl hydrophiler als auch hydrophober Stoffe der Atemluft ermöglicht.

Der Aufbau der Atemproben, angelehnt an den von Ehmann et al (83), wie er auch in dieser Studie verwendet wurde, zeigte auch schon in anderen Studien vielversprechende Ergebnisse (90).

In dieser Studie wurde nicht genau kontrolliert, welches Volumen Atemluft pro Patient durch die Atemprobe floss, was eventuell für die etwas schlechtere Sensitivität bei der Bewertung der Atemproben (78,0 %) im Gegensatz zur Sensitivität bei der Bewertung der Urinproben (87,8 %) verantwortlich sein könnte. Ein Lösungsansatz hierfür könnte eine Überwachung des Volumens durch Spirometrie sein (90); andere Autoren empfehlen die Kollektion von Atemluft über mindestens zehn Minuten (91). Gegebenenfalls empfiehlt sich auch die Benutzung eines Nasenclips während der Kollektion der Atemluft, damit alle Moleküle der Atemluft in der Probe landen und nicht teilweise über die Nase ausgeatmet und damit nicht von der Probe aufgefangen werden können (91).

Bezüglich der Urinproben lassen sich Lagerung und Abnahmezeitraum bzw. -umstände diskutieren. In dieser Studie fanden die Abgabe und das Aufziehen des Urins in Probenröhrchen stets auf dem Klinikumsgelände, insbesondere der weitere Umgang und die Lagerung der Proben stets im Forschungslabor der Medizinischen Klinik II der Klinikum Darmstadt GmbH statt – die Umgebung war somit standardisiert. Es wurde ebenfalls darauf verzichtet, eine bestimmte Uhr- oder Tageszeit zur Probenabgabe zu wählen, denn sollten VOCs im Urin nachweisbar sein, so müssten sie schließlich jederzeit im Urin nachweisbar sein, ansonsten hätte ihre Analyse als Screening keinen Sinn in der klinischen Praxis.

Der weitere Umgang mit den Proben war in den bisher publizierten Studien zur olfaktorischen Detektion von Lungenkarzinomen oder anderen Tumorarten ebenfalls sehr unterschiedlich:

Während in der vorliegenden Dissertationsarbeit alle Proben zunächst bei -80°C kryokonserviert wurden, wurden Proben in anderen Studien teilweise nicht gekühlt und bei Raumtemperatur gelagert (84) oder bei geringeren Temperaturen konserviert (78,81,84,90). Auch ist nicht evident, ob ein Einfrieren und Auftauen von Proben zu einer Verminderung der Probenqualität bzw. zu einem Verlust an VOCs führen kann (92).

Horváth et al. beschreiben, dass ein Einfrieren von Atemproben auf mindestens -70°C nach dem Sammeln zur Vorbeugung einer Inaktivierung von Proteasen und damit einer Veränderung der Proteinzusammensetzung der Ausatemluft beiträgt (91).

Daten bezüglich der maximalen Kryokonservierungsdauer existieren bis dato nicht; manche Mediatoren scheinen allerdings haltbarer bzw. beständiger zu sein als andere (91).

In manchen Studien konnte dagegen beschrieben werden, dass Proben mehrere Wochen bis Monate gelagert werden können, ohne dass dies mit einer schlechteren Sensitivität oder Spezifität assoziiert gewesen wäre (83,93).

In einer Studie zur olfaktorischen Detektion von Blasenkarzinomen (77) wurden Urinproben teilweise getrocknet und teilweise nass präsentiert, wobei auffällig war, dass die Hunde deutlich schlechtere Erfolgsraten aufwiesen, wenn die Proben getrocknet präsentiert wurden.

Der in dieser Studie durchgeführte standardisierte Umgang und die Lagerung der Proben zentral im Forschungslabor unter Kryokonservierung bei -80°C bis zum Transport zum Hund haben zu vielversprechenden Ergebnissen geführt, sodass sich das hier beschriebene Prozedere zum Zweck der olfaktorischen Detektion von Lungenkarzinomen zu eignen scheint.

5.3 Hund und Hundekonditionierung

In dieser Studie wurde ein Hund der Rasse Golden Retriever konditioniert. Es ist zu diskutieren, ob die Wahl einer anderen Hunderasse oder eines anderen Hundes andere Ergebnisse hervorgebracht hätte, da nicht genau definiert werden kann, welche Hunde sich am besten zur olfaktorischen Detektion eignen (94). Am häufigsten wurde jedoch in Studien zur olfaktorischen Detektion von Lungenkarzinomen ein Labrador Retriever eingesetzt (78,93,94).

Die Zugehörigkeit zu einer bestimmten Hunderasse ist aufgrund der oben geschilderten rassenspezifischen Unterschiede im Aufbau des olfaktorischen Epithels zur Eignung für einen Einsatz zur olfaktorischen Detektion ausschlaggebend (68,95). Dabei scheinen jedoch auch innerhalb einer Hunderasse Unterschiede zu bestehen, beispielsweise in Bezug auf die individuelle Konditionierbarkeit und die individuelle Motivierbarkeit (93): so unterscheiden sich die erzielten Ergebnisse von deutschen und belgischen Schäferhunden trotz identischer Konditionierung; alle falsch-positiven Ergebnisse wurden in einer Studie von Marchal et al., in der die Hunde auf die Geruchserkennung von Menschen konditioniert wurden, durch

belgische Schäferhunde erzielt und führten damit zu einer deutlich schlechteren Spezifität der olfaktorischen Detektion durch belgische Schäferhunde als der olfaktorische Detektion derselben Proben durch deutsche Schäferhunde (96).

In einer Studie zur olfaktorischen Detektion von Prostatakarzinomen im Urin von Patienten mithilfe von zwei deutschen Schäferhunden – beide drei Jahre alt und auf dieselbe Weise gleich lang konditioniert – fanden sich keine signifikanten Unterschiede: Während Hund 1 eine Sensitivität von 100 % und eine Spezifität von 98,7 % erreichte, erzielte Hund 2 eine Sensitivität von 98,6 % und eine Spezifität von 97,6 % (97).

Welche Faktoren innerhalb derselben Rasse außerdem einen Einfluss auf das Riechorgan oder die Lernfähigkeit der Hunde haben, ist noch nicht vollständig geklärt, wobei Entzündungen, Hydrierung bzw. Ernährung des Hundes und Grundkrankheiten des Hundes hierbei wohl eine Rolle spielen dürften (63).

Möglicherweise verlieren zudem jüngere Hunde schneller die Motivation während der Konditionierung als ältere Hunde (94) – der Hund in dieser Studie war mit sieben Jahren in der Mitte seiner Lebenserwartung.

Zur Objektivierung der Eignung eines Hundes und auch für den Erhalt eines objektiveren Ergebnisses einer olfaktorischen Bewertung von Proben einer Studie, welches nicht nur individuell für einen einzigen Hund gilt, könnte es sinnvoll sein, mehrere Hunde zu konditionieren und dieselben Proben von mehreren Hunden bewerten zu lassen, wie es auch in anderen Studien versuchsweise durchgeführt worden ist (83,90,98).

Als ein Lebewesen, das sich in unterschiedlichen Gemüts- und Gesundheitszuständen befindet, ist ebenfalls denkbar, dass ein falsches olfaktorisches Ergebnis eines Hundes nicht zwangsläufig mit einer mangelnden Eignung des Hundes zusammenhängen muss. Das Nicht-Erkennen karzinomspezifischer VOCs in einer präsentierten Probe könnte ebenso mit einer mangelnden Motivation für die Belohnung oder einem mangelnden Interesse an dem Testprozedere zusammenhängen (94). Dies spricht abgesehen von anderen Gründen gegen den Einsatz von Hunden für ein Breitenscreening auf Bronchialkarzinom und verdeutlicht die Notwendigkeit der Entwicklung einer elektronischen Nase, die unabhängig von Tagesform und Gemütszustand valide Ergebnisse liefert.

Ferner hat die Art und Weise der Konditionierung von Hunden einen Einfluss auf die von ihnen erzielten Ergebnisse in der Studienphase. In der vorliegenden Studie wurde die

Konditionierungsphase analog zur Studienphase aufgebaut, da Hunde in Studienphasen wohl bessere Ergebnisse erzielen, wenn der Aufbau und der Ablauf der Konditionierungsphase derjenigen der Studienphase entspricht (96).

Idealerweise sollte jede Probe nur einmal präsentiert werden, der Hund an dem Material konditioniert werden, welches er später auch bewerten muss und es sollte ein doppelblinder Studienablauf angestrebt werden; alle drei Voraussetzungen konnten in der vorliegenden Studie erfüllt werden:

Hunde haben ein ausgeprägtes Geruchsgedächtnis. Aus diesem Grund kann die mehrmalige Präsentation derselben Patientenproben in der Konditionierungsphase oder in der Konditionierungs- und Studienphase dazu führen, dass ein Hund eine bereits bekannte Probe wieder erkennt; was zu einer falschen Erhöhung der Sensitivität führen würde (99).

In einer Studie zur olfaktorischen Detektion von Prostatakarzinomen wurden den Hunden während der Konditionierung mehrmals Proben derselben Patienten präsentiert, während in der Studienphase nur neue Proben verwendet wurden – in dieser Studie erzielten die Hunde mit die schlechtesten Ergebnisse bezogen auf Spezifität und Sensitivität (100). Dies bedeutet, dass die Hunde während der Konditionierungsphase womöglich fälschlicherweise auf die Erkennung bereits präsentierter Proben konditioniert wurden anstatt auf die olfaktorische Detektion prostatakarzinomspezifischer VOCs.

Zur Detektion von Lungenkarzinomen existieren ebenfalls zwei Studien, in denen Hunden die Proben mehrmals präsentiert wurden. Auch hier erzielten sie im Vergleich zu anderen Studien deutlich schlechtere Ergebnisse (84,85).

Die Autoren dieser Studien bekräftigten mit diesem Ergebnis nochmals die Vermutung, dass Hunde sich auch durch ihren ausgeprägten Geruchssinn den individuellen Geruch eines Patienten und die damit verbundene eingetretene oder ausgebliebene Belohnung einprägen können, anstatt zu lernen einen „Karzinomgeruch“ zu erkennen (96,100).

In der vorliegenden Studie wurden dem Hund ebenfalls wenige Proben während der Konditionierungsphase mehrmals präsentiert. Hierbei handelte es sich jedoch um unterschiedliche Phasen der Konditionierungsphase: im letzten Schritt der Konditionierungsphase, in der der Hund auf die Erkennung von einer Karzinomprobe unter fünf Kontrollproben konditioniert wurde, wurde keine Probe mehrfach präsentiert. Nichtsdestotrotz wären die oben genannten Voraussetzungen zumindest bezüglich der Konditionierungsphase durch eine höhere Fallzahl an Patienten in der

Konditionierungsphase und damit einer nur einmaligen Präsentation jeder Probe besser erfüllt gewesen.

In einer Studie zur olfaktorischen Detektion von Amundsen et al., die schlechtere Ergebnisse als die meisten anderen Studien erzielte, wurden Hunde nicht mit Atem- und Urinproben konditioniert, obwohl sie diese in der Studienphase später bewerten sollten. Stattdessen wurden sie mit Biopsiematerial von exakt einem SCLC und einem NSCLC konditioniert. Auffällig ist, dass in dieser Studie trotzdem deutlich schlechtere Ergebnisse erreicht wurden, obwohl die Autoren ausgesprochen akribisch versuchten Störfaktoren zu minimieren: die Patienten durften beispielsweise unter anderem 4-12 Stunden vor der Probenabnahme nicht essen und rauchen und die Proben mussten nach spätestens zwei bis vier Wochen den Hunden präsentiert werden, anstatt lange gelagert zu werden (84). Aus welchem Grund die Ergebnisse in dieser Studie so viel schlechter waren, lässt sich allerdings nur schwer objektivieren, da das unterschiedliche Konditionierungsmaterial nicht der einzige Parameter war, der diese Studie von Amundsen et al. von anderen unterscheidet: Auch hier wurden Proben mehrmals präsentiert, und die Anzahl an Proben von Karzinompatienten pro Durchgang variierte von eins bis fünf (84).

In einigen Studien zur olfaktorischen Detektion von Bronchialkarzinomen wurden die Hunde, genauso wie in dieser Studie, mit der „Clicker-Methode“ auf ein bestimmtes Verhalten konditioniert (78,83). Die „Clicker-Methode“ ist nicht besser als die Belohnung des Hundes durch eine Fütterung zur Konditionierung von Hunden geeignet, jedoch auch nicht schlechter (101). Sie hat im Gegensatz zur Anzeige eines richtigen Verhaltens des Hundes durch Fütterung den Vorteil, dass ein Hund nicht unter gesundheitlichen Folgen aufgrund einer Überfütterung im Rahmen der Bewertung von mehreren Proben leiden muss.

Die Konditionierungsperiode in dieser Studie war mit einem Jahr relativ lang. In bereits publizierten Studien wurden die Hunde beispielsweise nur drei Wochen (Detektion von Bronchialkarzinomen in Atemproben mit einer Sensitivität von 99 % und einer Spezifität von 99 %, Detektion von Mammakarzinomen in Atemproben mit einer Sensitivität von 88 % und einer Spezifität von 98 % (78)), sieben Monate (Detektion von Blasenkarzinom im Urin mit einer Erfolgsrate von 41 %, (77)) oder neun Monate (Detektion von Mammakarzinom, Melanomen und Bronchialkarzinom in Atemproben mit einer Sensitivität von 79 % und einer

Spezifität von 78 % (94)) lang konditioniert. Die lange Konditionierungsperiode in der vorliegenden Studie war durch die niedrige Frequenz an Konditionierungstagen von im Durchschnitt nur 1-2 Mal pro Woche bedingt. Es gibt allerdings auch eine Studie, in der Hunde, die einmal die Woche konditioniert wurden, schneller ein bestimmtes Konditionierungslevel erreichten, als Hunde, die fünfmal die Woche konditioniert wurden (102) – es scheint also nicht so zu sein, dass eine häufigere Konditionierung zwangsläufig auch gleichzeitig zu einem schneller erreichbaren Konditionierungslevel und damit zu einer schnelleren Durchführbarkeit einer Studienphase führt.

Schlechte Konditionierung der Hunde und konsekutiv wiederholt schlechte Ergebnisse während der Studienphase ohne Belohnung scheinen bei den Hunden ebenfalls zu einer Frustration zu führen, die wohl zu Einbußen in Konzentration und Treffsicherheit führen kann (103).

5.4 Diskussion der Ergebnisse

In der vorliegenden Studie konnten ermutigende Ergebnisse der olfaktorischen Detektion von Bronchialkarzinomen im Urin und in der Atemluft von Patienten erreicht werden; die Ergebnisse bezüglich Sensitivität und Spezifität sind statistisch signifikant und liegen über dem Durchschnitt der bisher publizierten Studien zur olfaktorischen Detektion (82). Die durchschnittliche Sensitivität aller bisher publizierten Studien zur olfaktorischen Detektion von Lungenkarzinomen lag bei 78 %, die durchschnittliche Spezifität bei 71,5 % (79,83,84,85,86).

Es konnte gezeigt werden, dass ein Hund in Urin und Atemluft Bronchialkarzinome im Allgemeinen besser detektieren kann als es mit einer Bronchoskopie möglich wäre, die dazu noch invasiv ist – in dieser Studie konnte per Bronchoskopie nur eine Sensitivität von 56,1 % erreicht werden. Dem gegenüber steht eine Sensitivität der olfaktorischen Detektion im Urin von 87,8 % und in der Atemluft von 78 % (siehe Abbildung 24: Graphische Darstellung des Vergleichs der Sensitivität der diagnostischen Methoden).

Die CT erreichte in dieser Studie eine Sensitivität von 100 % und ist damit der Goldstandard. Ihr sinnvoller Einsatz als Lungenkarzinomscreening lässt sich damit auch in dieser Studie bekräftigen. Aufgrund der mit ihr einhergehenden Strahlenbelastung sollte ihr Einsatz allerdings limitiert sein auf eine Risikopopulation, da bei einem generellen Einsatz in der

Bevölkerung das Risiko durch die Strahlenbelastung den Nutzen überwiegt (2). Ihr Einsatz wird außerdem limitiert durch die hohe Rate an falsch positiven Ergebnissen (25).

Die Definition einer Risikopopulation, in der ihr Nutzen ihr Risiko und ihre Kosten überwiegt, ist zudem schwierig, da Tabakkonsum offensichtlich nicht der einzige Parameter ist, der eine derartige Risikopopulation definiert (26).

Hier stellt die olfaktorische Detektion des Lungenkarzinoms eine vielversprechende Alternative dar: Die Gewinnung von Atem- und/oder Urinproben ist nichtinvasiv und ohne Komplikationsrisiko. Dadurch ist eine genaue Eingrenzung einer Risikopopulation nicht zwingend notwendig, da der Nutzen selbst bei einer Sensitivität und Spezifität von unter 100 % überwiegen würde. Durch die Einfachheit der Probengewinnung wäre ein solcher Test zudem an vielen Orten einsetzbar, kostengünstiger als die CT und jederzeit wiederholbar.

Die fehlende Fähigkeit zur olfaktorischen Detektion einer Lungenkarzinomerkrankung in einem frühen Stadium ist ein Kritikpunkt an der Methode (93).

Im Atemtest war die Sensitivität für das UICC-Stadium 1 am höchsten und betrug 100 %. Bei nur zwei Patienten mit einer Lungenkarzinomerkrankung im Stadium I lässt diese Studie allerdings keine Aussage darüber treffen, ob die Detektion von Lungenkarzinomen in einem so frühen Stadium mit einem tatsächlich ähnlich vielversprechendem Ergebnis möglich ist. Die Ergebnisse des Atemtests in anderen UICC-Stadien bewertend fällt zudem auf, dass die Sensitivität über die UICC-Stadien II-IV stetig anstieg: Im Stadium II lag sie bei 66,7 %, im Stadium III bei 72,7 % und im Stadium IV bei 81,8 % (siehe Tabelle 16: Sensitivität der Bewertung der Atemproben nach UICC-Stadium).

Im Urintest ließ sich bei Lungenkarzinomerkrankungen im UICC-Stadium III die beste Sensitivität erreichen (100 %); die schlechteste Sensitivität der olfaktorischen Detektion bei Lungenkarzinomerkrankungen wurde im Urin im UICC-Stadium I erzielt mit 50 % (siehe Tabelle 21: Sensitivität der Bewertung der Urinproben nach UICC-Stadium).

In anderen publizierten Studien wurde hingegen kein signifikanter Unterschied in der olfaktorischen Detektion von Bronchialkarzinomen in der Atemluft von Patienten abhängig vom Tumorstadium festgestellt (78,83,94).

In einer Studie wurde für beide Materialien wiederum auch beschrieben, dass Sensitivität und Spezifität der olfaktorischen Detektion abhängig von der Histologie seien (84): Im Urin und in der Atemluft erreichten die Hunde eine bessere Sensitivität bei Proben von Patienten,

die an einem SCLC erkrankt waren, als bei Proben von Patienten mit einem NSCLC. In der vorliegenden Studie konnte ebenfalls eine bessere Sensitivität bei der Bewertung von Proben von Patienten, die an einem SCLC erkrankt waren, erreicht werden: Die Sensitivität für Atemproben eines an einem SCLC erkrankten Patienten betrug 90 %, während sie für Proben eines an einem NSCLC erkrankten Patienten 74,2 % betrug. In Bezug auf die Urinproben war die Sensitivität weniger abhängig von der Histologie: Für die Detektion von SCLC im Urin lag die Sensitivität bei 90 % und für die Detektion von NSCLC im Urin bei 87,1 %.

Die Detektion von Lungenkarzinomen gelang in dieser Studie im Allgemeinen besser im Urin (Sensitivität 87,8 %, Spezifität 97,6 %) als in der Atemluft (Sensitivität 78,0 %, Spezifität 95,6 %).

Die vorliegende Studie ist nicht die erste und einzige Studie, in der die olfaktorische Detektion von Lungenkarzinomen im Urin mit besseren Ergebnissen gelang als in Atemproben (94), obwohl es anatomisch naheliegender wäre, dass die Atemluft, die ebenfalls durch die Bronchien strömt, auch von Karzinomzellen ausgehende Geruchsmoleküle enthält – ebenso wie es anatomisch gut vorstellbar ist, dass sich Urin gut zur olfaktorischen Detektion von Nieren- oder Blasenkarzinomen eignet.

Ein Grund für die bessere Eignung von Urinproben könnte sein, dass wie bereits beschrieben, die Kollektion von Atemluft nicht so einfach gelingt wie die Kollektion von Urin. Durch ungeeignete Verfahren könnte es sein, dass Geruchsmoleküle nicht konserviert werden können und dadurch vom Hund nicht wahrgenommen werden können, während sie in Urin flüssig gelöst und daher einfacher zu gewinnen sind.

5.5 Mögliche Störfaktoren auf die Detektion

Mögliche Störfaktoren bei der Detektion von Lungenkarzinomen durch Spürhunde sind schwer zu identifizieren.

Vorstellbar wäre, dass abgesehen von Rauchgeruch oder der Veränderung der VOCs, z. B. durch einen Harnwegsinfekt, noch andere Umstände wie beispielsweise bestimmte Medikamente oder Krankenhausgeruch (93) die Treffsicherheit der Hunde beeinflussen können.

Da nicht bekannt ist, welches VOC oder welche Kombination von VOCs einem Hund ein Karzinom anzeigen, kann allerdings auch nicht mit Sicherheit untersucht werden, welche

möglichen Vorgänge im Körper, welche Einflüsse auf den Körper oder welche Umweltfaktoren einen Einfluss auf die Ausprägung oder Detektion dieser VOCs haben könnten.

5.5.1 Medikamente und COPD

In einer Studie wurden jegliche Medikamente, die die Patienten zum Zeitpunkt der Aufnahme in die Studie zu sich nahmen, dokumentiert, und es wurde eine Regressionsanalyse durchgeführt, die für Metoprolol und Tiotropiumbromid einen p-Wert von $< 0,05$ ergab und diese somit als mögliche Störfaktoren identifizierte (83).

In derselben Studie wurde untersucht, ob das Vorhandensein einer COPD – eine Erkrankung, die eine entzündliche Komponente aufweist – zu einem Unterschied in der Detektion von Lungenkarzinomen durch Hunde in der Atemluft führt, was in dieser Studie nicht nachgewiesen werden konnte (83), obwohl Entzündungen im Körper zu einer Veränderung von VOCs führen können (87).

5.5.2 Krankenhausgeruch

Andere Studien bewerteten den „Krankenhausgeruch“ als potentiellen Störfaktor (93,94). In einer Studie machten die Hunde mehr falsch positive Anzeigen, wenn die Proben innerhalb eines Krankenhauses gesammelt wurden als wenn sie außerhalb gesammelt wurden (94).

Die Autoren empfehlen daher, alle Proben im identischen Milieu zu sammeln – ob innerhalb oder außerhalb eines Krankenhauses.

In dieser Studie wurden daher alle Proben ausschließlich innerhalb der Klinikum Darmstadt GmbH, beziehungsweise einer angrenzenden Praxis gesammelt. In Anbetracht der Tatsache, dass ein Screening auf Lungenkarzinom idealerweise sowohl in Krankenhäusern als auch in Ambulanzen und Hausarztpraxen einsetzbar sein sollte, müssen Hunde allerdings trotz des eventuellen Störfaktors des Krankenhausgeruchs Proben richtig identifizieren können beziehungsweise ein VOC-Profil darstellbar sein, welches ebenfalls eventuell Geruchsmoleküle des Krankenhausgeruchs enthält und trotzdem eine sichere Diagnose zulässt. Selbst wenn also der Krankenhausgeruch einen Hund ablenken sollte, so wäre dies ein Störfaktor, mit dem ein Hund umgehen muss und mit dem er trotzdem Lungenkarzinomproben zuverlässig von Proben gesunder Patienten unterscheiden können sollte, um in der olfaktorischen Detektion von Lungenkarzinomen als Screening sowohl

innerhalb als auch außerhalb eines Krankenhauses einsetzbar zu sein – das gleiche gilt für die Umsetzung dieses bionischen Ansatzes in eine elektronische Nase.

5.5.3 Tabakkonsum

Ob der Rauchstatus einen Einfluss auf die Treffsicherheit von Hunden haben könnte, wurde in einigen Studien diskutiert und scheint nicht abwegig, da auch für die menschliche Nase der Rauchgeruch deutlich wahrzunehmen ist und es daher vorstellbar wäre, dass die deutlich sensiblere Hundenase durch diesen Geruch abgelenkt wird von einem Erkennen anderer karzinomspezifischer Duftstoffe (93). In einer Studie von McCulloch et al. konnte eine Assoziation zwischen aktuellem Tabakkonsum und den Ergebnissen der Hunde gezeigt werden, während in derselben Studie ein ehemaliger, zum Zeitpunkt der Studie sistierender Tabakkonsum keinen Einfluss auf die Treffsicherheit der Hunde zu haben schien (78). In einer anderen Studie von Ehmann et al. hingegen schien der Rauchstatus keinen Einfluss auf die Treffsicherheit der Hunde zu haben (83).

Wiederum in einer Studie von Hackner et al. wurden ausschließlich aktuelle oder ehemalige Raucher eingeschlossen (85), und es wurden im Vergleich zu anderen Studien zur olfaktorischen Detektion von Lungenkarzinomen deutlich schlechtere Ergebnisse mit einer Sensitivität von 78,6 % und einer Spezifität von 34,4 % erreicht. Da sich allerdings nicht nur die Ein- und Ausschlusskriterien dieser Studie von anderen unterschieden, sondern vor allem auch die Art der Präsentation der Proben, in dem die Anzahl an Karzinomproben ebenso wie in der Studie von Amundsen et al. (84) zwischen einer und fünf Karzinomproben pro Durchgang variierte, ist das schlechtere Ergebnis wahrscheinlich nicht sicher und nicht nur auf den Ausschluss von Nichtrauchern zurück zu führen. Hinzukommt, dass in der Studie von Amundsen et al. (84) sowohl Nichtraucher als auch Raucher eingeschlossen wurden und die Hunde trotzdem ein schlechteres Ergebnis als in anderen Studien erreichten, so dass ein Zusammenhang des schlechteren Ergebnisses mit der Variation der Anzahl an präsentierten Karzinomproben pro Durchgang eher naheliegend ist.

Sollte der Tabakgeruch allerdings tatsächlich zu einer schlechteren Sensitivität und Spezifität der olfaktorischen Detektion von Lungenkarzinomen führen, so wäre diese Methode als Screening nicht geeignet, da ein Screening auf Lungenkarzinome zwangsläufig genauso gut bei Rauchern als auch bei Nichtrauchern einsetzbar sein müsste. Ähnlich wie bei der Frage nach dem Einfluss eines Krankenhausgeruchs, ist es notwendig, die Fähigkeit von Hunden zur Detektion ungeachtet des Tabakkonsums der Probanden zu untersuchen, da diese

Fähigkeit Voraussetzung für ein Screening ist. Aufgrund dessen wurde in dieser Studie auf eine Vorgabe bezüglich des Tabakkonsums zum Ein- oder Ausschluss von Patienten verzichtet.

5.5.4 Beurteilung Confounder

Wahrscheinlich gibt es Umstände, die zu einer besseren Nachweisbarkeit eines bestimmten VOCs führen oder zu einer höheren Quantität von VOCs im Urin oder der Atemluft beitragen, jedoch wäre eine Entwicklung eines Tests zum Screenen auf Lungenkarzinome, der mit höchst strengen Vorgaben zu beispielsweise Rauchverhalten, Essverhalten, Aufenthaltsort der letzten Stunden oder sogar Tage oder Medikamenteneinnahme verbunden wäre, kein Test, der zu jeder Zeit einfach einzusetzen und auch in einer Hausarztpraxis praktikabel wäre. Es wurde daher auf eine strenge Eingrenzung des Studienkollektivs verzichtet, um die Eignung der olfaktorischen Detektion von Lungenkarzinomen unter diesen Bedingungen zu evaluieren.

5.6 Einsatz von Hunden zum Screening auf Lungenkarzinome

Obwohl Studien zur olfaktorischen Detektion von Karzinomen mithilfe von Spürhunden meist als Grundlage für den Versuch einer Identifikation von karzinomspezifischen VOCs und der Entwicklung einer elektronischen Nase dienen, kann man auch den Einsatz von Spürhunden zum Screening auf Karzinome diskutieren.

Problematisch hierbei wäre der Einsatz von Hunden als Diagnoseinstrument aus tierschutzrechtlicher Sicht – wobei Hunde ebenfalls als Diagnoseinstrument beispielsweise bei der Drogenfahndung eingesetzt werden oder experimentell im medizinischen Bereich, zum Beispiel als Epilepsiehund (104,105) oder zur Detektion von Hypoglykämien bei Diabetespatienten (106,107).

Des Weiteren erfordert der Einsatz von Spürhunden zur Detektion von Karzinomen ein standardisiertes Sammeln der Proben, einen standardisierten Umgang mit den Proben, eine standardisierte Lagerung der Proben und außerdem eine standardisierte Konditionierung und Führung der Hunde. Alle bisherigen Studien stimmten in mindestens einem dieser Punkte nicht mit anderen überein, und valide Studien zum standardisierten Umgang mit Hunden und Proben fehlen bis jetzt. Hinzu kommt, dass wie bereits geschildert, Hunde große individuelle Unterschiede in ihrem Charakter, ihrer Motivation und ihrer Lernfähigkeit

aufweisen, ganz abgesehen von ihrem unterschiedlichem genetischen Potential, um für solche Zwecke eingesetzt zu werden (108). Auch ein einzelner Hund kann im Verlauf Einbußen bei der Motivierbarkeit oder dem Interesse an der Detektion zeigen, sodass die negative Bewertung einer Probe nicht zwingend auch bedeuten muss, dass der Hund in dieser Probe tatsächlich keine karzinomspezifischen Duftstoffe wahrgenommen hat (93,109) – es mag auch andere Gründe für sein Verhalten geben, was der Nachteil ist am Einsatz von individuellen Hunden im Gegensatz zu einer immer auf gleiche Weise arbeitenden und frei von individuellen Charaktereigenschaften arbeitenden Maschine. Möglich ist zudem, dass ein Hund ein bereits konditioniertes Verhalten wieder verlernt, wobei bisher keine Daten publiziert wurden, wie lange ein Hund ein konditioniertes Verhalten beibehalten kann (93). Welche Faktoren einen Hund zu welcher Zeit beeinflussen, lässt sich zudem schlecht abschätzen (109). Hinzukommt, dass, wie bereits geschildert, in allen bisherigen Studien nur Patienten in Karzinomkollektive eingeschlossen wurden, die eine bereits mit aktuell zu Verfügung stehenden Methoden bestätigte Lungenkarzinomerkrankung hatten. Es ist jedoch unsicher und auf der anderen Seite auch schwer zu untersuchen, ob Hunde ebenfalls in der Lage sind, Lungenkarzinome in der Atemluft zu diagnostizieren, wenn sie mit den aktuell zur Verfügung stehenden Methoden noch nicht nachweisbar sind (93).

Auf der anderen Seite gibt ein Hund bei der Bewertung einer Probe immer ein klares positives oder negatives Signal, anders als eine massenspektroskopische Analyse von Proben oder deren Analyse durch eine elektronische Nase, bei der ein bestimmtes Muster an VOCs detektiert wird.

Die Konditionierung von Hunden ist darüber hinaus kostengünstiger als die Entwicklung und Verwendung einer elektronischen Nase oder die aufwendige Aufbereitung von Proben und deren Analyse durch massenspektroskopische Verfahren (93). Aufgrund dieses Arguments sehen manche Autoren die Verwendung von Hunden zum Screening auf das Lungenkarzinom als Möglichkeit in ärmeren Ländern an (93).

Die Analyse der Atemproben durch die Hunde hat auch einen zeitlichen Vorteil: In der vorliegenden Studie hat die Analyse aller sechs Atemproben eines Durchgangs im Durchschnitt 10 Sekunden gedauert. Diese Analyse ist damit deutlich schneller als eine aufwendige Analyse der VOC per GC-MS oder elektronischer Nase.

Letztendlich erscheint allerdings ein routinemäßiger Einsatz von Spürhunden in der Lungenkarzinomdiagnostik in Kliniken oder Hausarztpraxen doch eher unwahrscheinlich, unter anderem auch aus hygienischen Aspekten. Es ist daher das Ziel, eine Identifikation der dem Hund ein Karzinom signalisierenden VOCs auf elektronischem Wege anzustreben.

5.7 Ausblick

Die Ergebnisse dieser Studie liefern vielversprechende Ergebnisse bezüglich der olfaktorischen Detektion von Lungenkarzinomen durch Spürhunde in Urin und Atemluft.

Zur weiteren Verifizierung der hier bestätigten Hypothese, dass Spürhunde in der Lage sind, Lungenkarzinome in Urin und Atemluft zu diagnostizieren, können allerdings noch unterschiedliche Aspekte diskutiert werden und eventuelle Ansätze für folgende Studien darstellen:

Zu einer weiteren Objektivierung der Detektions-Fähigkeit von Hunden könnte eine unterschiedliche Anzahl an Kontrollproben, die mit einer oder mehrerer Karzinomproben gleichzeitig präsentiert werden (90), im Gegensatz zu einer strikten 1:5-Präsentation, wie sie in dieser Studie durchgeführt wurde, beitragen. Hierbei müsste der Hund sich nicht immer für eine Probe entscheiden, sondern tatsächlich mehrere oder sogar keine Probe pro Durchgang als Karzinomprobe identifizieren. In einer Studie von Amundsen et al., in welcher die Anzahl an Karzinomproben pro Durchgang in der Studienphase variierte, erzielten die Hunde enttäuschendere Ergebnisse bezüglich Sensitivität (55-70 %) und Spezifität (8,3 %) (84), jedoch waren auch die Anzahl an Proben, der Probenaufbau, der Umgang mit den Proben und die Konditionierung der Hunde sehr unterschiedlich zur vorliegenden Studie, sodass es kaum zu differenzieren ist, ob eine variable Anzahl an Karzinomproben tatsächlich einen Unterschied in der Sensitivität und Spezifität der olfaktorischen Detektion von Lungenkarzinomen ausmacht.

Interessant zu untersuchen wäre außerdem, ob es einen „generellen Karzinomgeruch“ über alle Tumorentitäten hinweg gibt, den die Hunde wahrnehmen, oder ob unterschiedliche Malignitäten für einen Hund unterschiedliche Gerüche haben. Ein möglicher Ansatz wäre dafür, dass man den Hund auf die Detektion eines Malignoms beispielsweise im Urin konditioniert und ihm im Verlauf ebenfalls Urinproben von einem Patienten präsentiert, der

an einem anderen Malignom erkrankt ist. Sollte der Hund einen generellen Karzinomgeruch unabhängig von der Art des Malignoms wahrnehmen, so hätte dies Vor- und Nachteile.

Ein Vorteil wäre, dass eine Detektion vieler Karzinomarten möglich wäre, ohne dass ein Hund spezifisch auf ein Karzinom konditioniert werden müsste. Außerdem könnte der Hund anhand von Proben verschiedener Malignome konditioniert werden, sodass seine Wahrnehmung des Karzinomgeruchs unter Umständen noch sensibler werden würde und damit die Sensitivität und Spezifität der olfaktorischen Detektion verbessert werden könnte (100).

Ein großer Nachteil wäre allerdings, dass die olfaktorische Detektion eines bestimmten Malignoms in diesem Fall nicht mehr möglich wäre, da hiermit bewiesen wäre, dass der Hund „nur“ eine maligne Tumorerkrankung detektieren kann, nicht aber das spezifische Karzinom.

5.7.1 Elektronische Nasen und Identifikation karzinomspezifischer VOCs

Zum Einsatz von elektronischen Nasen in der Detektion von Lungenkarzinomen gibt es bereits vielversprechende Ansätze, allerdings ist bis dato ein klinischer Einsatz als Screening nicht möglich. Dies hängt vor allem damit zusammen, dass der Einsatz elektronischer Nasen teuer ist, die Probensammlung und -lagerung nicht standardisiert abläuft, die Analyse der Atemproben zu lange dauert, und dass das Medium (der verwendete Absorber oder Sensor), mit welchem die Atemproben durch die elektronische Nase analysiert werden, nicht einheitlich ist (110). Auch gibt es unterschiedliche wissenschaftliche Meinungen darüber, welche VOCs durch elektronische Nasen nachgewiesen werden sollten. Bisher ist noch nicht klar, welche VOCs Hunden anzeigen, dass ein Patient an einem Karzinom erkrankt ist. Weiterhin ist unklar, ob es sich um ein einziges karzinomspezifisches VOC oder vielmehr um ein Profil an VOCs handelt, das oder die in erhöhter oder erniedrigter Konzentration oder sogar exklusiv bei Patienten mit einem Lungenkarzinom vorliegen (82,93).

Obwohl bisher 24 VOCs als potentielle Lungenkarzinommarker identifiziert wurden, wie zum Beispiel Aldehyde, 2-Butanon und 1-Butanol (49), stimmen die verschiedenen Studien in ihrer Identifikation von lungenkarzinomspezifischen VOCs nur wenig überein. Hinzukommt, dass nur wenige Studien die Identifikation von VOCs an eine Analyse von Proben durch Spürhunde koppeln, wie es im Anschluss an diese Studie durchgeführt wird. Die Koppelung einer Identifikation von VOCs an die Bestätigung ihrer karzinomspezifischen Eigenschaften durch ihre erneute Präsentation den Hunden gegenüber in Form von synthetischen Proben,

macht insofern Sinn, als dass mittlerweile in mehreren Studien – so auch in dieser – mit sehr guten Ergebnissen gezeigt werden konnte, dass Hunde zur Diskriminierung von Proben gesunder und Karzinompatienten in der Lage sind. Ein solches Vorgehen entspricht damit einer positiven Bestätigung.

Bisherige Studien, die Detektionsraten von Hunden bei Präsentation von synthetischen Proben mit der Präsentation von Karzinomproben verglichen, erzielten sehr unterschiedliche Ergebnisse: In einer Studie mit 108 Lungenkarzinompatienten und 121 Kontrollpatienten konnte eine erhöhte Konzentration von 1-Propanol, 2-Propanol, Methylacetat, Hexanal, Dimethylsulfid und Carbonsulfid in der Atemluft von Lungenkarzinompatienten nachgewiesen werden, wobei die in dieser Studie konditionierten Hunde die synthetischen Proben deutlich schlechter (Sensitivität 21 %) als die eigentlichen Lungenkarzinomproben (Sensitivität 86 %) identifizierten (111), sodass dieser „VOC-Cocktail“ somit ungeeignet zur Detektion von Lungenkarzinomen zu sein scheint.

In einer anderen Studie von Buszewski et al. konnte per GC-MS eine höhere Konzentration an Butanal, 2-Butanon, Ethylacetat, Acetat, Ethylbenzen, 2-Pentanon, 1-Propanol und 2-Propanol in der Atemluft von 44 Lungenkarzinompatienten verglichen mit der Atemluft von 29 gesunden Kontrollpatienten festgestellt werden (112). Bei Präsentation von synthetischen Atemproben, die mit diesen Substanzen angereichert waren, konnten Hunde eine Sensitivität von 82,2 % und eine Spezifität von 82,4 % erreichen (112).

Eine andere Studie von Deng et al. ergab, dass Atemproben von Lungenkarzinompatienten mehr 1-Butanol, 2-Butanon, 2-Pentanon und Hexanal enthalten, als Atemproben von gesunden Probanden (113). Diese Verbindungen wurden daraufhin in einer Studie auf einem Fließ absorbiert und Hunden präsentiert, wobei diese tatsächlich drei von vier synthetischen Proben als Karzinomproben identifizierten (90).

Lungenkarzinomzellen scheinen allerdings nicht nur andere VOCs oder VOCs in größeren Mengen zu produzieren als normale Zellen, sondern offensichtlich auch Substrate wie beispielsweise Aldehyde zu verbrauchen, die dann in einer geringeren Konzentration bestimmter VOCs resultieren (114).

In einer weiteren Studie von Wang et al. wurde eine alternative Technik zur Identifikation karzinomspezifischer VOCs genutzt: Es wurden während einer Ein-Lungen-Beatmung während einer Lungenkarzinomoperation die VOC-Profile des karzinombetroffenen Lungenflügels und des gesunden Lungenflügels, sowie das VOC-Profil des

karzinombetroffenen Lungenflügels vor und nach der Operation verglichen (115). Die Konzentrationen an Caprolactam und Propionsäure unterschieden sich vor der Entfernung des Tumors in der Atemluft der gesunden und der betroffenen Lunge, während ihr Anteil an den gesamten VOCs nach der Operation in beiden Proben ähnlich war (115). Dies bedeutet, dass karzinomspezifische VOCs existieren, die nur so lange nachzuweisen sind, wie lange sich ein Karzinom im Körper eines Patienten befindet, während sie nach Entfernung des Karzinoms sofort nicht mehr nachzuweisen sind und betont damit nochmals die Eignung einer Bestimmung von VOCs in der Lungenkarzinomdiagnostik.

Die Identifikation karzinomspezifischer VOCs wird demnach die Aufgabe und Herausforderung weiterführender Studien sein, damit eine nicht-canine Screeningmethode für das Lungenkarzinom entwickelt werden kann, die eine identische oder höhere Sensitivität und Spezifität wie die canine Nase erreicht.

6 Zusammenfassung

Die Prognose eines Lungenkarzinompatienten ist abhängig von Alter, Diagnosezeitpunkt und histologischem Subtyp des Lungenkarzinoms. Auf das Erkrankungsalter und auf den histologischen Subtyp hat ein Patient bis auf den Versuch der Lebensstiländerung zur Primärprävention keinen Einfluss – den Diagnosezeitpunkt könnte man durch die Etablierung eines Screenings auf das Lungenkarzinom verändern und die Mortalitätsrate der Erkrankung dadurch senken.

Ziel dieser Studie war es zu zeigen, dass ein speziell konditionierter Spürhund durch Beurteilung von Urin und Atemluft von Patienten ein Lungenkarzinom detektieren kann. Die Eigenschaften des Patientenkollektivs wurden bis auf das Alter und die Karzinom-/Tumoranamnese hierfür möglichst wenig eingeschränkt, um die Fähigkeit eines Hundes an einem Kollektiv zu testen, welches – ebenso wenig vorselektiert – einer Screeningpopulation in einer Hausarztpraxis entsprechen könnte.

Als nicht-invasive Methode und aufgrund der einfachen Probenbeschaffung stellt die Analyse von Urin oder Atemluft einen Hoffnungsträger in der Entwicklung eines Lungenkarzinomscreenings dar.

In der vorliegenden Studie wurde mithilfe eines professionellen Hundetrainers und -führers ein Hund konditioniert, zwischen Atem- und Urinproben von 41 Karzinompatienten und 205 gesunden Patienten zu differenzieren. Der Hund musste hierbei jeweils eine Karzinomprobe unter fünf Kontrollproben in einem doppelblinden Versuchsaufbau detektieren.

Die Detektion von Lungenkarzinomen im Urin der Patienten gelang mit einer Sensitivität von 87,8 % und einer Spezifität von 97,6 %; in der Atemluft der Patienten mit einer Sensitivität von 78,0 % und einer Spezifität von 95,6 %. Die Spezifität der olfaktorischen Detektion war damit in dieser Studie geringfügig besser als die Sensitivität der olfaktorischen Detektion, wobei in dieser Studie insgesamt eine höhere Sensitivität erreicht wurde als mit diagnostischen Alternativen zur Detektion eines Lungenkarzinoms, wie beispielsweise der Bronchoskopie.

Die CT konnte in dieser Studie als Goldstandard überzeugen, jedoch muss ihr Einsatz aufgrund der Strahlenbelastung und den häufigen falsch-positiven Ergebnissen im Vorsorgescreening kritisch hinterfragt werden.

Da ein Einsatz von Hunden zum Screening auf Lungenkarzinom aufgrund der Heterogenität bisheriger Studienkonzepte und einer damit verbundenen schwierigen Standardisierung ihres Einsatzes als nicht zielführend erscheint, stellt das Ziel zukünftiger Studien die Identifikation lungenkarzinomspezifischer VOCs dar. Ein Grundstein hierfür wurde durch die parallele Kollektion von jeweils einer Urin- und Atemprobe derselben Patienten dieser Studie und deren massenspektroskopischer Analyse am DKFZ Heidelberg gelegt. Das Ziel ist die Etablierung einer elektronischen Nase zur Detektion von Lungenkarzinomen.

Die endgültige Entwicklung eines Tests, welcher identifizierte lungenkarzinomspezifische VOCs nachweist, ähnlich wie ein Schwangerschaftstest das β HCG im Urin von Patientinnen nachweisen kann, könnte viele Leben retten. Er wäre nichtinvasiv, standardisiert und einfach an jedem Ort einsetzbar.

7 Literaturverzeichnis

1. Koch-Institut R. Krebs in Deutschland | 2015/2016 [Internet]. 2015 [cited 2020 Jan 5]. Available from:
https://www.krebsdaten.de/Krebs/DE/Content/Publikationen/Krebs_in_Deutschland/kid_2019/krebs_in_deutschland_2019.pdf?__blob=publicationFile
2. Onkologie L. S3-Leitlinie Lungenkarzinom [Internet]. 2018 [cited 2019 May 22]. Available from: https://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/020-007OL_I_S3_Lungenkarzinom_2018-03.pdf
3. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2020. *CA Cancer J Clin*. 2020 Jan 8;70(1):7–30.
4. National Lung Screening Trial Research Team, Aberle DR, Adams AM, Berg CD, Black WC, Clapp JD, et al. Reduced Lung-Cancer Mortality with Low-Dose Computed Tomographic Screening. *N Engl J Med*. 2011 Aug 4;365(5):395–409.
5. Koch-Institut R. Bericht zum Krebsgeschehen in Deutschland 2016 [Internet]. [cited 2019 May 22]. Available from:
https://www.krebsdaten.de/Krebs/DE/Content/Publikationen/Krebsgeschehen/Krebsgeschehen_download.pdf?__blob=publicationFile
6. Schottenfeld D, Fraumeni JF. *Cancer Epidemiology and Prevention*. 4th ed. Thun MJ, Linet MS, Cerhan JR, Haiman CA, Schottenfeld D, editors. New York: Oxford University Press; 2017. 526–537 p.
7. Kumar V, Abbas AK, Aster JC, Perkins JA. *Robbins basic pathology*. 10th ed. Philadelphia, Pennsylvania: Elsevier; 2018. 537–543 p.
8. Höfler G, Kreipe H, Moch H. *Pathologie*. 6th ed. München: Urban & Fischer Verlag/Elsevier GmbH; 2019. 512–521 p.
9. Mons U, Kahnert S. Neuberechnung der tabakattributablen Mortalität – Nationale und regionale Daten für Deutschland. *Das Gesundheitswes*. 2019 Jan 15;81(01):24–33.
10. DeMarini DM. Genotoxicity of tobacco smoke and tobacco smoke condensate: A review. *Mutat Res - Rev Mutat Res*. 2004;567(2-3 SPEC. ISS.):447–74.
11. *Passivrauchen-ein unterschätztes Gesundheitsrisiko Rote Reihe Tabakprävention und Tabakkontrolle Band 5* Deutsches Krebsforschungszentrum, Heidelberg. 2005.
12. Darby S, Hill D, Auvinen A, Barros-Dios JM, Baysson H, Bochicchio F, et al. Radon in homes and risk of lung cancer: collaborative analysis of individual data from 13

- European case-control studies. *BMJ*. 2005 Jan 29;330(7485):223.
13. Menzler S., S.R.A. WHE. Attributives Lungenkrebsrisiko durch Radon-Expositionen in Wohnungen Stellungnahme der Strahlenschutzkommission. 2006.
 14. Bundesamt für Strahlenschutz - Radon [Internet]. [cited 2020 Apr 10]. Available from: https://www.bfs.de/DE/themen/ion/umwelt/radon/radon_node.html
 15. Huber RM, Nowak D. Tumoren der Lunge und des Mediastinums Empfehlungen zur Diagnostik, Therapie und Nachsorge. 12th ed. 2014. 282–300 p.
 16. Faserjahre (BK-Report 1/2013). Deutsche Gesetzliche Unfallversicherung; 2013.
 17. National Lung Screening Trial Research Team, Aberle DR, Berg CD, Black WC, Church TR, Fagerstrom RM, et al. The National Lung Screening Trial: Overview and Study Design. *Radiology*. 2011 Jan;258(1):243–53.
 18. National Lung Screening Trial Research Team, Church TR, Black WC, Aberle DR, Berg CD, Clingan KL, et al. Results of Initial Low-Dose Computed Tomographic Screening for Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2013 May 23;368(21):1980–91.
 19. Patz EF, Pinsky P, Gatsonis C, Sicks JD, Kramer BS, Tammemägi MC, et al. Overdiagnosis in Low-Dose Computed Tomography Screening for Lung Cancer. *JAMA Intern Med*. 2014 Feb 1;174(2):269.
 20. de Koning HJ, van der Aalst CM, de Jong PA, Scholten ET, Nackaerts K, Heuvelmans MA, et al. Reduced Lung-Cancer Mortality with Volume CT Screening in a Randomized Trial. *N Engl J Med*. 2020 Feb 6;382(6):503–13.
 21. Smith RA, Andrews KS, Brooks D, Fedewa SA, Manassaram-Baptiste D, Saslow D, et al. Cancer screening in the United States, 2018: A review of current American Cancer Society guidelines and current issues in cancer screening. *CA Cancer J Clin*. 2018 Jul 1;68(4):297–316.
 22. Oudkerk M, Devaraj A, Vliegenthart R, Henzler T, Prosch H, Heussel CP, et al. European position statement on lung cancer screening. *Lancet Oncol*. 2017;18(12):e754–66.
 23. O'Connor GT, Hatabu H. Lung Cancer Screening, Radiation, Risks, Benefits, and Uncertainty. *JAMA*. 2012 Jun 13;307(22):2434–5.
 24. Martin DR, Semelka RC. Health effects of ionising radiation from diagnostic CT. *Lancet*. 2006 May 27;367(9524):1712–4.
 25. Dammas S, Patz EF, Goodman PC. Identification of small lung nodules at autopsy: implications for lung cancer screening and overdiagnosis bias. *Lung Cancer*. 2001

- Jul;33(1):11–6.
26. Stang A, Schuler M, Kowall B, Darwiche K, Kühl H, Jöckel KH. Lungenkrebs screening mit Low Dose Computertomographie in Deutschland -Hochrechnung der Kennzahlen des National Lung Screening Trial. *Dtsch Arztebl Int.* 2015;112(38):637–44.
 27. Oken MM, Hocking WG, Kvale PA, Andriole GL, Buys SS, Church TR, et al. Screening by chest radiograph and lung cancer mortality: The Prostate, Lung, Colorectal, and Ovarian (PLCO) randomized trial. *JAMA - J Am Med Assoc.* 2011;306(17):1865–73.
 28. Tanaka F, Yoneda K, Hasegawa S. Circulating tumor cells (CTCs) in lung cancer: Current status and future perspectives. *Lung Cancer Targets Ther.* 2010;1:77–84.
 29. Man Y, Wang Q, Kemmner W. Currently Used Markers for CTC Isolation - Advantages, Limitations and Impact on Cancer Prognosis. *J Clin Exp Pathol.* 2011;01(01):1–7.
 30. Mehlen P, Puisieux A. Metastasis: a question of life or death. *Nat Rev Cancer.* 2006 Jun;6(6):449–58.
 31. Ashworth TR. A Case of Cancer in Which Cells Similar to Those in the Tumours Were Seen in the Blood after Death. *Med J Aust.* 1869;14:146–7.
 32. Hong Y, Fang F, Zhang Q. Circulating tumor cell clusters: What we know and what we expect (Review). *Int J Oncol.* 2016;49(6):2206–16.
 33. Murlidhar V, Ramnath N, Nagrath S, Reddy RM. Optimizing the detection of circulating markers to aid in early lung cancer detection. *Cancers (Basel).* 2016;8(7):1–10.
 34. Kapeleris J, Kulasinghe A, Warkiani ME, Vela I, Kenny L, O’Byrne K, et al. The Prognostic Role of Circulating Tumor Cells (CTCs) in Lung Cancer. *Front Oncol.* 2018 Aug 14;8.
 35. Huang H, Shi Y, Huang J, Wang X, Zhang R, Chen H. Circulating tumor cells as a potential biomarker in diagnosis of lung cancer: a systematic review and meta-analysis. *Clin Respir J.* 2018;12(2):639–45.
 36. Thomas M, Gatzemeier U, Goerg R, Matthiessen W, Morr H, Schönfeld N, et al. » Empfehlungen zur Diagnostik des Bronchialkarzinoms Deutsche Gesellschaft für Pneumologie. *Pneumologie.* 2000;54:361–71.
 37. Okamura K, Takayama K, Izumi M, Harada T, Furuyama K, Nakanishi Y. Diagnostic value of CEA and CYFRA 21-1 tumor markers in primary lung cancer. *Lung Cancer.* 2013;80(1):45–9.
 38. Reinhold U, Schroder C. Diagnostische Bedeutung frei zirkulierender Nukleinsäuren. *Dtsch Arztebl.* 2002;18:2–4.

39. Leon SA, Shapiro B, Sklaroff DM, Yaros MJ. Free DNA in the serum of cancer patients and the effect of therapy. *Cancer Res.* 1977 Mar;37(3):646–50.
40. Santarpia M, Karachaliou N, González-Cao M, Altavilla G, Giovannetti E, Rosell R. Feasibility of cell-free circulating tumor DNA testing for lung cancer. *Biomark Med.* 2016 Apr;10(4):417–30.
41. Cree IA, Uttley L, Buckley Woods H, Kikuchi H, Reiman A, Harnan S, et al. The evidence base for circulating tumour DNA blood-based biomarkers for the early detection of cancer: a systematic mapping review. *BMC Cancer.* 2017 Oct 23;17(1):697.
42. Carpagnano GE, Resta O, Foschino-Barbaro MP, Gramiccioni E, Carpagnano F. Interleukin-6 is Increased in Breath Condensate of Patients with Non-Small Cell Lung Cancer. *Int J Biol Markers.* 2002 Apr 24;17(2):141–5.
43. Carpagnano GE, Foschino-Barbaro MP, Resta O, Gramiccioni E, Carpagnano F. Endothelin-1 Is Increased in the Breath Condensate of Patients with Non-Small-Cell Lung Cancer. *Oncology.* 2004;66(3):180–4.
44. Boots AW, Bos LD, van der Schee MP, van Schooten F-J, Sterk PJ. Exhaled Molecular Fingerprinting in Diagnosis and Monitoring: Validating Volatile Promises. *Trends Mol Med.* 2015 Oct;21(10):633–44.
45. Haick H, Broza YY, Mochalski P, Ruzsanyi V, Amann A. Assessment, origin, and implementation of breath volatile cancer markers. *Chem Soc Rev.* 2014 Mar 7;43(5):1423–49.
46. Nardi-Agmon I, Peled N. Exhaled breath analysis for the early detection of lung cancer: recent developments and future prospects. *Lung Cancer Targets Ther.* 2017 May 17;Volume 8:31–8.
47. Pauling L, Robinson AB, Teranishi R, Cary P. Quantitative analysis of urine vapor and breath by gas-liquid partition chromatography. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1971 Oct 1;68(10):2374–6.
48. Phillips M, Herrera J, Krishnan S, Zain M, Greenberg J, Cataneo RN. Variation in volatile organic compounds in the breath of normal humans. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl.* 1999 Jun 11;729(1–2):75–88.
49. Schallschmidt K, Becker R, Jung C, Bremser W, Walles T, Neudecker J, et al. Comparison of volatile organic compounds from lung cancer patients and healthy controls—challenges and limitations of an observational study. *J Breath Res.* 2016 Oct 12;10(4).

50. Wallace LA, Pellizzari ED. PERSONAL AIR EXPOSURES AND BREATH CONCENTRATIONS OF BENZENE AND OTHER VOLATILE HYDROCARBONS FOR SMOKERS AND NONSMOKERS* (Exposure: body burden; volatile organic compounds; Tenax). Vol. 35, Toxicology Letters. 1986.
51. Kischkel S, Miekisch W, Sawacki A, Straker EM, Trefz P, Amann A, et al. Breath biomarkers for lung cancer detection and assessment of smoking related effects - confounding variables, influence of normalization and statistical algorithms. Clin Chim Acta. 2010 Nov;411(21-22):1637-44.
52. Gordon SM, Szidon JP, Krotoszynski BK, Gibbons RD, O'Neill HJ. Volatile organic compounds in exhaled air from patients with lung cancer. Clin Chem. 1985;31(8):1278-82.
53. Phillips M, Gleeson K, Hughes JMB, Greenberg J, Cataneo RN, Baker L, et al. Volatile organic compounds in breath as markers of lung cancer: A cross-sectional study. Lancet. 1999;353(9168):1930-3.
54. Broza YY, Kremer R, Tisch U, Gevorkyan A, Shiban A, Best LA, et al. A nanomaterial-based breath test for short-term follow-up after lung tumor resection. Nanomedicine Nanotechnology, Biol Med. 2013 Jan;9(1):15-21.
55. Phillips M, Bauer TL, Cataneo RN, Lebauer C, Mundada M, Pass HI, et al. Blinded Validation of Breath Biomarkers of Lung Cancer, a Potential Ancillary to Chest CT Screening. Kostikas K, editor. PLoS One. 2015 Dec 23;10(12).
56. Persaud K, Dodd G. Analysis of discrimination mechanisms in the mammalian olfactory system using a model nose. Nature. 1982;299(5881):352-5.
57. Machado RF, Laskowski D, Deffenderfer O, Burch T, Zheng S, Mazzone PJ, et al. Detection of Lung Cancer by Sensor Array Analyses of Exhaled Breath. Am J Respir Crit Care Med. 2005 Jun 1;171(11):1286-91.
58. Barash O, Peled N, Tisch U, Bunn PA, Hirsch FR, Haick H. Classification of lung cancer histology by gold nanoparticle sensors. Nanomedicine Nanotechnology, Biol Med. 2012 Jul;8(5):580-9.
59. Lawal O, Ahmed WM, Nijssen TME, Goodacre R, Fowler SJ. Exhaled breath analysis: a review of "breath-taking" methods for off-line analysis. Metabolomics. 2017;13(10):110.
60. Spiro SG, Gould MK, Colice GL, American College of Chest Physicians. Initial Evaluation of the Patient With Lung Cancer: Symptoms, Signs, Laboratory Tests, and

- Paraneoplastic Syndromes. *Chest*. 2007 Sep;132(3):149S-160S.
61. Van Tinteren H, Hoekstra OS, Smit EF, Van Den Bergh JHAM, Schreurs AJM, Stallaert RALM, et al. Effectiveness of positron emission tomography in the preoperative assessment of patients with suspected non-small-cell lung cancer: The PLUS multicentre randomised trial. *Lancet*. 2002;359(9315):1388–92.
 62. Wittekind C (Christian). *TNM: Klassifikation maligner Tumoren*. 8th ed. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA; 2017. 8–150 p.
 63. Jenkins EK, DeChant MT, Perry EB. When the Nose Doesn't Know: Canine Olfactory Function Associated With Health, Management, and Potential Links to Microbiota. *Front Vet Sci*. 2018 Mar 29;5:56.
 64. Quignon P, Galibert F. *Canine Olfaction Science and Law: Advances in Forensic Science, Medicine, Conservation, and Environmental Remediation*. Jezierski T, Ensminger J, Papet LE, editors. Taylor & Francis; 2016. 39–48 p.
 65. Quignon P, Rimbault M, Robin S, Galibert F. Genetics of canine olfaction and receptor diversity. *Mamm Genome*. 2012 Feb 13;23(1–2):132–43.
 66. Uemura EE. *Fundamentals of canine neuroanatomy and neurophysiology*. 1st ed. Danvers, MA: Wiley-Blackwell; 2015.
 67. Gazit I. *Variables Influencing Behaviour and Detection Efficiency in Explosives Detector Dogs*. 2005.
 68. Robin S, Tacher S, Rimbault M, Vaysse A, Dréano S, André C, et al. Genetic diversity of canine olfactory receptors. *BMC Genomics*. 2009 Jan 14;10(1):21.
 69. Lesniak A, Walczak M, Jezierski T, Sacharczuk M, Gawkowski M, Jaszczak K. Canine Olfactory Receptor Gene Polymorphism and Its Relation to Odor Detection Performance by Sniffer Dogs. *J Hered*. 2008 May 8;99(5):518–27.
 70. Lippi G, Cervellin G. Canine olfactory detection of cancer versus laboratory testing: myth or opportunity? *Clin Chem Lab Med*. 2012 Mar;50(3):435–9.
 71. Brennan PA, Zufall F. Pheromonal communication in vertebrates. *Nature*. 2006 Nov 15;444(7117):308–15.
 72. Adams DR, Wiekamp MD. The canine vomeronasal organ. *J Anat*. 1984;138 (Pt 4):771–87.
 73. Reep RL, Finlay BL, Darlington RB. The limbic system in mammalian brain evolution. *Brain Behav Evol*. 2007;70(1):57–70.
 74. Williams H, Pembroke A. SNIFFER DOGS IN THE MELANOMA CLINIC? *Lancet*. 1989 Apr

- 1;333(8640):734.
75. Church J, Williams H. Another sniffer dog for the clinic? *Lancet*. 2001 Sep 15;358(9285):930.
 76. Pickel D, Manucy GP, Walker DB, Hall SB, Walker JC. Evidence for canine olfactory detection of melanoma. *Appl Anim Behav Sci*. 2004;89(1–2):107–16.
 77. Willis CM, Church SM, Guest CM, Cook WA, McCarthy N, Bransbury AJ, et al. Olfactory detection of human bladder cancer by dogs: proof of principle study. *BMJ*. 2004 Sep 25;329(7468):712.
 78. McCulloch M, Jezierski T, Broffman M, Hubbard A, Turner K, Janecki T. Diagnostic accuracy of canine scent detection in early- and late-stage lung and breast cancers. *Integr Cancer Ther*. 2006 Mar;5(1):30–9.
 79. Horvath G, Andersson H, Paulsson G. Characteristic odour in the blood reveals ovarian carcinoma. *BMC Cancer*. 2010 Jan;10:643.
 80. Cornu J-N, Cancel-Tassin G, Ondet V, Girardet C, Cussenot O. Olfactory detection of prostate cancer by dogs sniffing urine: a step forward in early diagnosis. *Eur Urol*. 2011 Feb;59(2):197–201.
 81. Sonoda H, Kohnoe S, Yamazato T, Satoh Y, Morizono G, Shikata K, et al. Colorectal cancer screening with odour material by canine scent detection. *Gut*. 2011 Jun;60(6):814–9.
 82. Pirrone F, Albertini M. Olfactory detection of cancer by trained sniffer dogs: A systematic review of the literature. *J Vet Behav*. 2017;19:105–17.
 83. Ehmann R, Boedeker # E, Friedrich U, Sagert J, Dippon J, Friedel G, et al. Canine scent detection in the diagnosis of lung cancer: revisiting a puzzling phenomenon. *Eur Respir J*. 2011;39:669–76.
 84. Amundsen T, Sundstrøm S, Buvik T, Gederaas OA, Haaverstad R. Can dogs smell lung cancer? First study using exhaled breath and urine screening in unselected patients with suspected lung cancer. *Acta Oncol (Madr)*. 2014 Feb 12;53:307–15.
 85. Hackner K, Errhalt P, Mueller MR, Speiser M, Marzluf BA, Schulheim A, et al. Canine scent detection for the diagnosis of lung cancer in a screening-like situation. *J Breath Res*. 2016;10(4).
 86. Criée C, Baur X, Berdel D, Bösch D, Gappa M, Haidl P, et al. Spirometrie S2k-Leitlinie der Deutschen Atemwegsliga, der Deutschen Gesellschaft für Pneumologie und Beatmungsmedizin und der Deutschen Gesellschaft für Arbeitsmedizin und

- Umweltmedizin zur Spirometrie [Internet]. [cited 2019 Nov 7]. Available from: https://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/020-017l_S2k_Spirometrie-2015-05.pdf
87. Toyokuni S. Molecular mechanisms of oxidative stress-induced carcinogenesis: From epidemiology to oxygenomics. *IUBMB Life*. 2008 Jul 1;60(7):441–7.
 88. Liu J, Thomas PS. Relationship between Exhaled Breath Condensate Volume and Measurements of Lung Volumes. *Respiration*. 2007;74(2):142–5.
 89. Liu J, Conrad DH, Chow S, Tran VH, Yates DH, Thomas PS. Collection devices influence the constituents of exhaled breath condensate [3]. *Eur Respir J*. 2007;30(4):807–8.
 90. Fischer-Tenhagen C, Johnen D, Nehls I, Becker R. A proof of concept: Are detection dogs a useful tool to verify potential biomarkers for lung cancer? *Front Vet Sci*. 2018 Mar 14;5(52).
 91. Horváth I, Hunt J, Barnes PJ, Alving K, Antczak A, Baraldi E, et al. Exhaled breath condensate: Methodological recommendations and unresolved questions. *Eur Respir J*. 2005;26(3):523–48.
 92. Moser E, McCulloch M. Canine scent detection of human cancers: A review of methods and accuracy. *J Vet Behav Clin Appl Res*. 2010;5(3):145–52.
 93. Jezierski T, Walczak M, Ligor T, Rudnicka J, Buszewski B. Study of the art: canine olfaction used for cancer detection on the basis of breath odour. Perspectives and limitations. *J Breath Res*. 2015 May 6;9(2).
 94. Walczak M, Jezierski T, Górecka-Bruzda A, Sobczyńska M, Ensminger J. Impact of individual training parameters and manner of taking breath odor samples on the reliability of canines as cancer screeners. *J Vet Behav*. 2012 Sep 1;7(5):283–94.
 95. Lippi G, Cervellin G. Canine olfactory detection of cancer versus laboratory testing: myth or opportunity? *Clin Chem Lab Med*. 2012 Mar;50(3):435–9.
 96. Marchal S, Bregeras O, Puaux D, Gervais R, Ferry B. Rigorous Training of Dogs Leads to High Accuracy in Human Scent Matching-To-Sample Performance. Egles C, editor. *PLoS One*. 2016 Feb 10;11(2):e0146963.
 97. Taverna G, Tidu L, Grizzi F, Torri V, Mandressi A, Sardella P, et al. Olfactory System of Highly Trained Dogs Detects Prostate Cancer in Urine Samples. *J Urol*. 2014 Sep;193(4):1382–7.
 98. Gordon RT, Schatz CB, Myers LJ, Kosty M, Gonczy C, Kroener J, et al. The use of canines in the detection of human cancers. *J Altern Complement Med*. 2008

- Jan;14(1):61–7.
99. Edwards TL, Browne CM, Schoon A, Cox C, Poling A. Animal olfactory detection of human diseases: Guidelines and systematic review. Vol. 20, *Journal of Veterinary Behavior: Clinical Applications and Research*. Elsevier USA; 2017. p. 59–73.
 100. Elliker KR, Sommerville BA, Broom DM, Neal DE, Armstrong S, Williams HC. Key considerations for the experimental training and evaluation of cancer odour detection dogs: lessons learnt from a double-blind, controlled trial of prostate cancer detection. *BMC Urol*. 2014 Jan;14:22.
 101. Chiandetti C, Avella S, Fongaro E, Cerri F. Can clicker training facilitate conditioning in dogs? *Appl Anim Behav Sci*. 2016 Nov;184:109–16.
 102. Meyer I, Ladewig J. The relationship between number of training sessions per week and learning in dogs. *Appl Anim Behav Sci*. 2008 Jun 1;111(3–4):311–20.
 103. Horvath G, Andersson H, Nemes S. Cancer odor in the blood of ovarian cancer patients: a retrospective study of detection by dogs during treatment, 3 and 6 months afterward. *BMC Cancer*. 2013 Jan;13:396.
 104. Strong V, Brown SW, Walker R, Dogs S. Seizure-alert dogs — fact or fiction? *Seizure*. 1999;8:62–5.
 105. Martos Martinez-Caja A, De Herdt V, Boon P, Brandl U, Cock H, Parra J, et al. Seizure-alerting behavior in dogs owned by people experiencing seizures. *Epilepsy Behav*. 2019 May;94:104–11.
 106. Los EA, Ramsey KL, Guttman-Bauman I, Ahmann AJ. Reliability of Trained Dogs to Alert to Hypoglycemia in Patients with Type 1 Diabetes. *J Diabetes Sci Technol*. 2017 May 1;11(3):506–12.
 107. Rooney NJ, Guest CM, Swanson LCM, Morant S V. How effective are trained dogs at alerting their owners to changes in blood glycaemic levels?: Variations in performance of glycaemia alert dogs. *PLoS One*. 2019 Jan 1;14(1).
 108. Walker DB, Walker JC, Cavnar PJ, Taylor JL, Pickel DH, Hall SB, et al. Naturalistic quantification of canine olfactory sensitivity. *Appl Anim Behav Sci*. 2006 May 1;97(2–4):241–54.
 109. Overall KL. That Dog Is Smarter Than You Know: Advances in Understanding Canine Learning, Memory, and Cognition. *Top Companion Anim Med*. 2011 Feb;26(1):2–9.
 110. Boedeker E, Friedel G, Walles T. Sniffer dogs as part of a bimodal bionic research approach to develop a lung cancer screening. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2012

May 1;14(5):511–5.

111. Rudnicka J, Walczak M, Kowalkowski T, Jezierski T, Buszewski B. Determination of volatile organic compounds as potential markers of lung cancer by gas chromatography-mass spectrometry versus trained dogs. *Sensors Actuators, B Chem.* 2014 Oct 31;202:615–21.
112. Buszewski B, Ligor T, Jezierski T, Wenda-Piesik A, Walczak M, Rudnicka J. Identification of volatile lung cancer markers by gas chromatography-mass spectrometry: Comparison with discrimination by canines. *Anal Bioanal Chem.* 2012 Jul;404(1):141–6.
113. Deng C, Zhang X, Li N. Investigation of volatile biomarkers in lung cancer blood using solid-phase microextraction and capillary gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr B Anal Technol Biomed Life Sci.* 2004 Sep 5;808(2):269–77.
114. Sponring A, Filipiak W, Mikoviny T, Ager C, Schubert J, Miekisch W, et al. Release of volatile organic compounds from the lung cancer cell line NCI-H2087 in vitro. *Anticancer Res.* 2009 Jan;29(1):419–26.
115. Wang C, Dong R, Wang X, Lian A, Chi C, Ke C, et al. Exhaled volatile organic compounds as lung cancer biomarkers during one-lung ventilation. *Sci Rep.* 2015 May 8;4(1):7312.

8 Anhang

8.1 Ethikantrag der Studie inklusive Einverständnis- und Datenschutzerklärung

Studientitel **Identifikation von Lungentumoren in der Atemluft und/oder im Urin von Patienten sowie Identifikation von Darmtumoren im Stuhl von Patienten durch den Einsatz von Spürhunden**

Datum des Prüfplans 07.04.2017

Version 6.0

Studienleiter -----
Direktor Innere Medizin
Klinikum Darmstadt GmbH
Grafenstraße 9
64283 Darmstadt

Sub-Studienleiter -----
Deutsches Krebsforschungszentrum
Im Neuenheimer Feld 280
69120 Heidelberg

Betreuer -----
Darmteilprojekt Facharzt für Innere Medizin/Gastroenterologie
Klinikum Darmstadt GmbH
Grafenstraße 9
64283 Darmstadt

Betreuer -----
Lungenteilprojekt Leitender Oberarzt Sektionsleitung Pneumologie
Klinikum Darmstadt GmbH
Grafenstraße 9
64285 Darmstadt

Doktorandin Charlotte Feil
Studentin der Johann-Wolfgang-Goethe-Universität
Frankfurt

Ansprechpartner für die -----
Ethikkommission Direktor Innere Medizin
Klinikum Darmstadt GmbH
Grafenstraße 9
64283 Darmstadt

Unterschriften

1. Liste der im Prüfplan verwendeten Abkürzungen

BC	Bronchialkarzinom
EU	Europäische Union
FEV1	Forciertes expiratorisches Atemvolumen, Messgröße bei Lungenfunktion
FEV1/VCmax	Tiffneau-Wert, Messgröße bei Lungenfunktion
TLC	Totale Lungkapazität, Messgröße bei Lungenfunktion
VC	Vitalkapazität, Messgröße bei Lungenfunktion
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
CT	Computertomographie
MRT	Magnetresonanztomographie
PY	Erfassungsgröße für Raucherjahre (1PY = 1 Schachtel/Tag pro Jahr)
CRC	Kolorektales Karzinom

2. Stand der Wissenschaft / Hintergrund

Krebserkrankungen sind aktuell die zweithäufigste Todesursache in Deutschland und werden in den kommenden 10 Jahren zu der häufigsten Todesursache in entwickelten Ländern [1]. Der Krebs von Luftröhre, Bronchien und Lunge - kurz Lungenkrebs - ist in Deutschland das zweithäufigste Krebsleiden bei Männern und das dritthäufigste Krebsleiden bei Frauen [2]. Dreimal so viele Männer wie Frauen erkranken an Lungenkrebs. Laut Gesundheitsberichterstattung des Bundes (Gesundheit in Deutschland, 2006) erkrankten im Jahr 2002 etwa 32.550 Männer an Lungenkrebs, das sind knapp 15 Prozent aller Krebserkrankungen beim männlichen Geschlecht, die mehr als ein Viertel aller Krebstodesfälle bei Männern verursachen [3]. Bei den Frauen macht der Lungenkrebs mit jährlich rund 12.450 Neuerkrankungen derzeit sechs Prozent aller bösartigen Tumoren aus und verursacht etwa sechs Prozent der Krebstodesfälle.

Die Neuerkrankungsrate (Inzidenz) liegt laut Gesundheitsbericht bei deutschen Männern und Frauen in Bezug auf die EU im mittleren Bereich. Der Hauptrisikofaktor für Lungenkrebs ist seit langem bekannt. So sind bei Männern bis zu 90 Prozent, bei Frauen derzeit bis zu 60 Prozent der Lungenkrebsfälle auf das aktive Zigarettenrauchen zurückzuführen [4]. Bei deutschen Männern erreichte die Mortalität wie die Inzidenz zwischen Mitte der 1970er und Ende der 1970er Jahre ihren Höchststand. Seitdem ist ein rückläufiger Trend der altersstandardisierten Erkrankungsraten erkennbar, und zwar um durchschnittlich 0,9 Prozent pro Jahr. Da aber der Anteil älterer und alter Männer in der Bevölkerung wächst, steigt die absolute Zahl jährlicher Neuerkrankungen um 0,9 Prozent pro Jahr an.

Bei Frauen zeigt sich ein gegenläufiger Trend: Bei ihnen stieg aufgrund eines gesteigerten Zigarettenkonsums die altersstandardisierte Inzidenz seit den 1980er Jahren um jährlich 4,5 Prozent. Gleichzeitig nahm die absolute Zahl der jährlichen Neuerkrankungen um sechs Prozent pro Jahr zu.

Der Lungenkrebs ist eine schwierig zu behandelnde Erkrankung. Unbehandelt führt er, unabhängig vom Tumorstadium, im Durchschnitt innerhalb von 10 Monaten zum Tod

des Patienten [5]. Die besten Überlebenseaussichten (Heilung bzw. Lebensverlängerung um mehrere Jahre) haben Patienten, die aufgrund eines limitierten Tumorstadiums operiert werden können [6]. Dies sind 30-40% der Patienten. Dies setzt jedoch eine frühzeitige Identifizierung der meist asymptomatischen Patienten voraus. Hierbei kommen vor allem bildgebende (Röntgen-Thorax, Computertomographie) und für den Patienten belastende invasive Verfahren zur Gewebegewinnung zum Einsatz (Bronchoskopie mit Ultraschall (EBUS) und Punktion (FNA), bildgesteuerte Punktion). In den letzten Jahren wurde die Positronen-Emissions-Tomographie (PET), ein bildgebendes Verfahren der Nuklearmedizin, das Schnittbilder von lebenden Organismen erzeugt, indem es die Verteilung einer schwach radioaktiv markierten Substanz (Radiopharmakon) im Organismus sichtbar macht und damit biochemische und physiologische Funktionen abbildet (funktionelle Bildgebung), als Staging-Instrument vermehrt eingesetzt.

Leider zeigen zunehmend mehr klinische Studien, dass die durch das PET gegebenen Möglichkeiten, Lungentumoren eindeutig und frühzeitig zu identifizieren, ebenfalls limitiert sind [7,8]. Somit sind die bestehenden Diagnosemethoden technisch aufwendig, teuer, aber leider immer noch unzureichend und eine Vorsorgeuntersuchung für Lungenkrebs existiert bis heute nicht.

Im Gegensatz zum Darmkrebs ist eine Vorsorgeuntersuchung für Lungenkrebs in Europa nicht etabliert.

Zurückgehend auf erste Erfahrungsberichte aus dem Jahr 2001 [9,10] wurde vereinzelt versucht, Hunde auf die Identifikation von krebsspezifischen organischen Verbindungen in der Atemluft von Patienten mit Lungentumoren zu trainieren. In einzelnen Serien wurden hierfür eine alle bildgebenden Verfahren übertreffende Spezifität und Sensitivität von 99% berichtet [10]. Die in diesen Publikationen angewendeten Studiendesigns lassen sich jedoch nur mit Einschränkungen auf die klinische Praxis übertragen.

Darmkrebs ist bei Männern das dritthäufigste Krebsleiden und bei Frauen sogar das zweithäufigste [2]. Es besteht daher eine große Notwendigkeit – ebenso wie beim Lungenkrebs – für eine Früherkennung bzw. einer geeigneten Vorsorgeuntersuchung für Darmkrebs.

Zur Zeit wird zur Darmkrebsvorsorge ab dem 50. Lebensjahr ein Stuhltest auf Blut (Hämoccult-Test) und ab dem 55. Lebensjahr alle 10 Jahre eine Darmspiegelung (Koloskopie) durchgeführt.

Hierbei ist zu beachten, dass der Stuhltest eine schlechte Sensitivität von ca. 30% hat und die Koloskopie hat eine höhere Sensitivität von bis zu 94% – wird allerdings lediglich von ca. 25% der Bevölkerung wahrgenommen. Dies hängt wahrscheinlich mit der Invasivität der Darmspiegelung zusammen, sodass viele die Vorsorge ablehnen.

Im Jahr 2010 gab es 33.800 Neuerkrankungen bei Männern und 28.620 bei Frauen. Im gleichen Jahr starben 13.489 Männer und 12.510 Frauen an einem Darmtumor. [11]

Betroffene spüren lange Zeit lang nichts von einem Darmtumor, da die typischen Symptome wie Blut im Stuhl, lange anhaltender Durchfall, chronische Verstopfung oder andere Veränderungen der Verdauung erst zu einem späten Zeitpunkt auftreten.

Eine ausschließliche operative Entfernung des Tumors wird allerdings nur durchgeführt, solange der Tumor noch nicht gestreut hat – also im frühen Stadium (Stadium I-III, ohne Metastasen). Bei fortgeschrittenen Stadien wird nach der Operation in der Regel noch eine Chemotherapie angeschlossen. Die Kosten einer solchen Therapie (die meist ein halbes Jahr dauert) betragen rund 20.000 Euro pro Patient [11].

Hat ein Patient einen Tumor im Stadium IV (Metastasen), so belaufen sich die Kosten – da meistens eine Antikörpertherapie nötig ist – sogar auf 10.000 Euro pro Monat.

Eine Früherkennung von Darmkrebs ermöglicht daher nicht nur ein besseres Outcome für die Patienten, sondern auch finanzielle Einsparungen.

Die Brauchbarkeit einer Screeningmaßnahme lässt sich durch folgende Parameter beschreiben:

Sensitivität: Wahrscheinlichkeit, dass eine erkrankte Person als krank erkannt wird,

Spezifität: Wahrscheinlichkeit, dass eine gesunde Person **nicht** als krank bezeichnet wird. Diese Maße beschreiben die Güte des Tests und können in der hier dargestellten Studie bestimmt werden.

Für die Brauchbarkeit eines Tests als Früherkennungsverfahren in der Bevölkerung sind auch noch von Bedeutung:

Positiver prädiktiver Wert: Wahrscheinlichkeit, dass eine test-positive Person tatsächlich krank ist,

Negativer prädiktiver Wert: Wahrscheinlichkeit, dass eine test-negative Person tatsächlich gesund ist.

Diese Maße hängen sowohl von Sensitivität und Spezifität des Tests als auch von der Häufigkeit (Prävalenz) der Erkrankung in der untersuchten Bevölkerung ab. So können auch Tests mit hoher Spezifität bei seltenen Erkrankungen zu einer erheblichen Zahl von falsch positiven Ergebnissen führen.

Positiver und negativer prädiktiver Wert können aus dieser Studie nur abgeschätzt werden, wenn man zusätzlich Informationen über die Inzidenz bzw. Prävalenz der Erkrankung hat. Die epidemiologischen Krebsregister können solche Zahlen zur Verfügung stellen.

3. Hypothese

Ziel der Untersuchung ist es die Sensitivität und Spezifität der olfaktorischen Detektion in der Ausatemluft / Urin (Lungenkrebs) und im Stuhl / Urin (Darmkrebs) in einer prospektiven Patientenpopulation (BC N=100, CRC N=100) zu bestimmen. Hierbei wird eine Sensitivität > 90%, und eine Spezifität > 90% erwartet. Aufgrund der fehlende Invasivität wäre die olfaktorische Detektion, wenn technisch in eine elektronische Nase

übertragbar, eine von der Breite der Bevölkerung angenommene und günstige Vorsorgeuntersuchung.

En detail:

- 1.) Testung der Sensitivität und Spezifität der olfaktorischen Tumordetektion in der Atemluft von 100 Lungenkrebspatienten im Vergleich zum Röntgen, Bronchoskopie und Tumormarkern CYFRA-21 und CEA.
Erwartung: Sensitivität > 90%, Spezifität > 90%.
- 2.) Testung der Sensitivität und Spezifität der olfaktorischen Tumordetektion in Stuhl und Urin von 100 Darmkrebspatienten (inkl. Polypen über 20 mm) im Vergleich zur Koloskopie und Hämoccult. Sensitivität > 90%, Spezifität > 90%.
- 3.) Identifikation der krebspezifischen Trigger-Moleküle in der Ausatemluft und im Stuhl via HPLC.

4. Zielgröße

Hauptzielgröße: Sensitivität der olfaktorischen Detektion in der Ausatemluft / Urin (Lungenkrebs) und im Stuhl / Urin (Darmkrebs)

Nebenzielgröße: Spezifität der olfaktorischen Detektion in der Ausatemluft / Urin (Lungenkrebs) und im Stuhl / Urin (Darmkrebs)

Zusammen mit dem Deutschen Krebsforschungszentrum soll danach eine massenspektroskopische Analyse (HPLC) der durch den Hund entdeckten Moleküle erfolgen mit dem bionischen Ziel, ein technisches Chip-Verfahren (Elektronische Nase) für die breite Anwendung zu entwickeln. Ein geeignetes Chip-Verfahren könnte als einfache, kostengünstige und nicht-invasive Vorsorge in der breiten Bevölkerung eingesetzt werden.

5. Studiendesign

Im Folgenden werden die Populationen dargestellt

- Lunge
 - Ausbildungskollektiv
 - Studienkollektiv
- Kolon
 - Ausbildungskollektiv
 - Studienkollektiv

Sowie

- die Biometrie
- die Rekrutierung

5.1. Studienpopulation „Lunge“

	Kollektiv A	Kollektiv B	Kollektiv C	Kollektiv D
Beschreibung	Ausbildungskollektiv BC-Patienten	Ausbildungskollektiv Kontrollpersonen	Studienkollektiv BC-Patienten	Studienkollektiv Kontrollpersonen
Einschlusskriterien	<ul style="list-style-type: none"> ➤ 45-80 LJ ➤ Einwilligungsfähig ➤ Gesichertes BC 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ 45-80 LJ ➤ Einwilligungsfähig ➤ Unauffällige kardiopulmonale Auskultation 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ 45-80 LJ ➤ Einwilligungsfähig ➤ Gesichertes BC 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ 45-80 LJ ➤ Einwilligungsfähig ➤ Unauffällige kardiopulmonale Auskultation
Ausschlusskriterien	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Komplette Remission des BC ➤ Andere maligne Erkrankung aktuell oder während der letzten fünf Jahre ➤ Einwilligung Widerruf der 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Krebsanamnese 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Komplette Remission des BC ➤ Andere maligne Erkrankung aktuell oder während der letzten fünf Jahre ➤ Widerruf der Einwilligung 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Krebsanamnese
Rekrutierung	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Klinikum Darmstadt ➤ Lungenzentrum Darmstadt (Prof. Steinmetz, Dr. Forster) 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Klinikum Darmstadt ➤ Lungenzentrum Darmstadt (Prof. Steinmetz, Dr. Forster) 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Klinikum Darmstadt ➤ Lungenzentrum Darmstadt (Prof. Steinmetz, Dr. Forster) ➤ Uniklinikum Frankfurt Thoraxchirurgie (Leitung Prof. Dr. Kleine) ➤ St. Elisabethen-Krankenhaus Frankfurt 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Klinikum Darmstadt ➤ Lungenzentrum Darmstadt (Prof. Steinmetz, Dr. Forster) ➤ Uniklinikum Frankfurt Thoraxchirurgie (Leitung Prof. Dr. Kleine) ➤ St. Elisabethen-Krankenhaus Frankfurt
Fallzahl	40	160	100	400

5.2. Studienpopulation „Darm“

	Kollektiv E	Kollektiv F	Kollektiv G	Kollektiv H
Beschreibung	Ausbildungskollektiv CRC-Patienten	Ausbildungskollektiv Kontrollpersonen	Studienkollektiv CRC-Patienten	Studienkollektiv Gesunde Kontrollpersonen
Einschlusskriterien	<ul style="list-style-type: none"> ➤ 45-80 LJ ➤ Einwilligungsfähig ➤ Bekanntes CRC / Polypen > 20 mm 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ 45-80 LJ ➤ Einwilligungsfähig ➤ Unauffällige Koloskopie 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ 45-80 LJ ➤ Einwilligungsfähig ➤ Bekanntes CRC / Polypen > 20 mm 	<ul style="list-style-type: none"> 45-80 LJ Einwilligungsfähig Unauffällige Koloskopie
Ausschlusskriterien	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Komplette Remission des BC ➤ Andere maligne Erkrankung (auch in der Anamnese) ➤ Widerruf der Einwilligung) 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Krebsanamnese ➤ Chronisch entzündliche Darmerkrankungen 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Komplette Remission des BC ➤ Andere maligne Erkrankung (auch in der Anamnese) ➤ Widerruf der Einwilligung 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Krebsanamnese ➤ Chronisch entzündliche Darmerkrankung
Rekrutierung	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Klinikum Darmstadt ➤ Magen-Darm-Zentrum Darmstadt 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Klinikum Darmstadt ➤ Magen-Darm-Zentrum Darmstadt 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Klinikum Darmstadt ➤ Magen-Darm-Zentrum Darmstadt 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Klinikum Darmstadt ➤ Magen-Darm-Zentrum Darmstadt
Fallzahl	40	160	100	320

Biometrie:

Die Sensitivität des Verfahrens wird geschätzt durch den Anteil der richtig positiven an den Fällen (Kollektive A, C, E, G), die Spezifität der Verfahren geschätzt durch den Anteil der richtig negativen an den Kontrollen (Kollektive B, D, F, H). Es werden 95%-Konfidenzintervalle angegeben, so dass es möglich ist, die Präzision der Angabe von Sensitivität und Spezifität zu bestimmen. Wenn die Sensitivität oder Spezifität bei 80% liegt hat das 95%-Konfidenzintervall eine Breite von $\pm 8.8\%$ bei 80 Probanden, von $\pm 7.8\%$ bei 100 Probanden, von $\pm 4.4\%$ bei 320 Probanden und von $\pm 3.9\%$ bei 400 Probanden. Beträgt die Sensitivität oder Spezifität sogar 95%, hat das 95%-Konfidenzintervall eine Breite von $\pm 4.8\%$ bei 80 Probanden, von $\pm 4.3\%$ bei 100 Probanden, von $\pm 2.4\%$ bei 320 Probanden und von $\pm 2.1\%$ bei 400 Probanden.

Die biometrische Unterstützung erfolgt durch Frau -----, Institut für Medizinische Biometrie, Epidemiologie und Informatik, Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität.

Rekrutierung:

- 2. Med. Klinik, Klinikum Darmstadt GmbH; Direktor -----, Grafenstrasse 9, 64283 Darmstadt.
- Lungenzentrum Darmstadt: Praxis im Fachärzteezentrum am Klinikum Darmstadt, Grafenstraße 13 in 64283 Darmstadt unter der Leitung von -----
- Uniklinikum Frankfurt: Abteilung Thoraxchirurgie unter der Leitung von -----
----- Theodor-Stern-Kai 7 in 60590 Frankfurt (Main)
- St. Elisabethen-Krankenhaus Abteilung Thoraxchirurgie unter der Leitung von --
-----; Ginnheimer Straße 3 in 60487 Frankfurt (Main)
- -----, Dieburger Straße 29, 64287 Darmstadt

6. Studienablauf und Untersuchungsmethoden

6.1. Aufstellung sämtlicher studienbedingten Untersuchungen

- a) Bei den Studienteilnehmern aller 8 Studienkollektive werden durchgeführt:**

Anamnese mit Focus auf bestehende Lungen- bzw. Darmerkrankungen, weitere bestehende Tumorerkrankungen, Nikotinkonsum.

b) Bei Patienten der Kollektive A-D: Atemproben: 3 bis 5-maliges tiefes Ausatmen (500 ml – 1000 ml) durch ein Untersuchungsrohrchen. Urinprobe aus dem Spontanurin (20 ml).

Konditionierungskollektive A / B

Kollektiv A hat ein bekanntes BC in situ. Kollektiv B hat keinen klinischen Hinweis auf ein BC in den letzten 12 Monaten erhalten.

Studienkollektive C / D

Kollektive C / D rekrutieren sich prospektiv aus den laufenden pneumologischen Patienten der teilnehmenden Zentren. Kollektiv C hat Nachweis eines BC und erhält im Rahmen der Routine-klinischen Abklärung ein CT-Thx, Bronchoskopie und Tumormarker. Kollektiv D hat keinen Nachweis eines BC.

c) Bei Patienten der Kollektive E-H: Abgabe einer Stuhl- und Urinprobe. Die Stuhlprobe (20-40 g) wird mit dem letzten Stuhlgang vor Beginn des Abführens abgenommen, die Urinprobe aus dem Mittelstrahl-Morgenurin vor Beginn des Abführens (20 ml).

Konditionierungskollektive E / F

Kollektiv E hat ein bekanntes CRC in situ. Kollektiv F hat eine Vorsorgekoloskopie ohne Nachweis von Polypen oder Malignomen in den letzten 12 Monaten erhalten.

Studienkollektive G / H

Kollektive G / H rekrutieren sich prospektiv aus dem laufenden Koloskopien der teilnehmenden Zentren. Kollektiv G hat Nachweis eines neuen CRC oder Polypen > 20 mm vor dessen Entfernung. Kollektiv H hat keinen Nachweis eines Polypen oder CRC. Patienten werden je nach Ergebnis der Koloskopie dem jeweiligen Kollektiv zugeordnet.

Bei allen als Kontrollpersonen eingeschlossenen Probanden wird nach 1 Jahr noch erfragt, ob zwischenzeitlich ein Tumor diagnostiziert wurde.

Es sind keine weiteren Studienspezifischen Untersuchungen am Patienten erforderlich.

6.1.1. Blutentnahmen
Keine.

6.1.2. Gewebeentnahmen
Keine.

6.1.3. Probengewinnung und Untersuchungen

- a) Für die in 6.1 als Untersuchung b) ausgewiesene Atemprobe müssen die Studienteilnehmer 3 bis 5-malig tief einatmen und anschließend ruhig und anhaltend (nicht forciert) durch ein Probenröhrchen ausatmen. Das Probenröhrchen ist ein Glaszylinder, der mit einer mit einem Silikonöl benetzten Polypropylenwolle ausgekleidet ist. Die organischen Verbindungen der Atemluft werden in der silikonisierten Polypropylenwolle fixiert. Die Untersuchungsröhrchen werden an beiden Enden durch Gummistopfen verschlossen. Die Untersuchungsröhrchen werden mit einem pseudonymisierten Patientencode erfasst (siehe 9.2). Die Probe wird bei -80 C kryokonserviert.
- b) Für die in 6.1 als Untersuchung b) ausgewiesene Urinprobe müssen die Patienten 20 Milliliter eines Spontanurins sammeln und abgeben. Der Urin wird in Urinbechern gesammelt und in Röhrchen umgefüllt. Die Untersuchungsröhrchen werden mit einem pseudonymisierten Patientencode erfasst (siehe 9.2). Die Probe wird bei -80 C kryokonserviert.
- c) Für die als Untersuchung c) ausgewiesene Stuhlprobe müssen die Patienten mit einem kleinen Spatel einen Teil ihres Stuhls (20 – 40 g) in ein dafür vorgesehenes Probenröhrchen füllen und abgeben. Die Untersuchungsröhrchen werden mit einem pseudonymisierten Patientencode erfasst (siehe 9.2). Die Probe wird bei -80 C kryokonserviert.
- d) Für die in 6.1 als Untersuchung c) ausgewiesene Urinprobe müssen Patienten die 20 Milliliter ihres ersten Morgenurins vor Beginn der Abfuhrmassnahme sammeln und abgeben. Der Urin wird in Urinbechern gesammelt und in Röhrchen umgefüllt. Die Untersuchungsröhrchen werden mit einem pseudonymisierten Patientencode erfasst (siehe 9.2). Die Probe wird bei -80 C kryokonserviert.
- e) Für die Untersuchung der Probenröhrchen werden 3 Hunde konditioniert. Die Tiere werden von Herrn ----- (Hundezentrum -----, -----; -----) trainiert. Nach der Konditionierungsphase Kollektive A/B und E/F (eine pathologische Probe des Kollektivs A, bzw. E unter 4 unauffälligen Proben des Kollektivs B, bzw. F) erfolgt die Analyse der Studienpopulation (Eine Probe des Kollektivs C oder G in 4 Proben des Kollektivs D, bzw. H). Herr ----- arbeitet seit mehr als 15 Jahren als Hundetrainer und bildet unter anderem Spürhunde für den Polizeidienst aus. Herr ----- hat die Konditionierung und Auswertung der größten europäischen Vorstudie zur olfaktorischen Detektion geleitet [10,12].
- f) Die molekulare Auswertung der Proben erfolgt pseudonymisiert am DKFZ. Per HPLC werden molekulare Unterschiede in den gesunden und

pathologischen Kollektiven definiert. Diese Daten werden mit den Befunden der olfaktorischen Detektion korreliert um olfaktorische potente Zielmoleküle zu definieren. Potentielle Zielmoleküle werden hiernach als Chemikalie käuflich erworben und in äquipotenten Dosen den Hunden re-exponiert (ebenfalls 1 (Zielmolekül) aus 15 (nicht-Zielmolekül)).

6.1.4. Lagerung der Proben

Die Atemproben mit der silikonisierten Polypropylenwolle, die Stuhlproben und die Urinproben werden am Klinikum Darmstadt verschlossen bei – 80°C gelagert.

6.1.4.1. Lagerungszeitraum

Die Probenröhrchen werden bis zur Beendigung den Tierexperimenten bzw. bis zur Auswertung am Deutschen Krebsforschungszentrum gelagert. Nach Abschluss der Studie werden sie vernichtet.

6.1.4.2. Blut-, Gewebebank

Es wird keine Blut- oder Gewebebank eingerichtet.

6.1.4.3. Vernichtung der Untersuchungsproben

Die Untersuchungsproben werden nach Abschluss der Studie verschlossen und entsorgt.

6.1.4.4. Die Anschrift des Labors, der Name des verantwortlichen Arztes

Trifft nicht zu.

6.1.4.5. Kennzeichnung der Proben

Die Probenröhrchen werden mit einem pseudonymisierten Code, der eine Nummer, sowie ein oder zwei Buchstaben enthält, gekennzeichnet (siehe 9.2).

7. Zeitrahmen der Studie

- Finalisierung Projektplan – erfolgt
- Einreichung Ethikkommission – erfolgt
- Freigabe Ethikkommission – erwartet für 1/2016
- Start Probensammlung für Konditionierung Q1/2016 – Q3/2016
- Konditionierung Hunde Q2/2017
- Start Probensammlung und canine Auswertung Patienten Q3/2016 – Q3/2017
- Q4/2017 – Q2/2018 Massenspektroskopische Detektion der Ziel-Moleküle im Atemvolumen/Urin/Stuhl
- Q3 2017 Bestimmung der Sensitivität / Spezifität der olfaktorische Diagnostik durch Hunde im Kontext der Lungencarcinomdiagnose
- Q3 2017 Bestimmung der Sensitivität / Spezifität der olfaktorische Diagnostik durch Hunde beim Nachweis von colorektalen Polypen.
- Q3/2018 Synthetische Herstellung der Ziel-Moleküle

- Q4/2018 Re-Exposition der Hunde mit synthetischen Zielmolekülen
- Q4 2018 Erzeugen der Ergebnisdokumente

8. Besondere Risiken

keine

9. Datenschutz (Datenerfassung,- auswertung, -weitergabe)

9.1. Datenbank: Es wird eine zentrale Datenbank (Excel) am Klinikum Darmstadt geführt.

9.1.1. erfasste Daten / Rückführbarkeit der Daten

Die Daten jedes Studienteilnehmers werden nach einem einheitlichen Code pseudonymisiert, um eine spätere biometrische Abgleichung der Ergebnisse zu ermöglichen. Erfasst werden: Name, Alter, Raucheranamnese (Py), Alkoholanamnese, Harnwegsinfektanamnese; bei Kollektiv A-D zusätzlich Lungenfunktion (VC, FEV1), histologisches Ergebnis, Tumormarker, bronchoskopisches Ergebnis, radiologisches Ergebnis, Ergebnis der Koloskopie bei Kollektiven E-H, Tumorstadium, Begleiterkrankungen.

9.1.2. Verständigung der Patienten über Erkenntnisse

Das Studiendesign entspricht einer Feasibility Study. Aus den Untersuchungsergebnissen ergibt sich für den Studienzeitraum keine therapeutische Konsequenz. Die Patienten werden deshalb nicht über die Untersuchungsergebnisse informiert.

9.1.3. Zeitraum der Datenspeicherung

Die Studienergebnisse sollen publiziert und in einer Dissertation von C. Feil verwendet werden. Entsprechend den Vorgaben der *Good Scientific Practice* werden die Daten deshalb für 10 Jahre nach Studienende gespeichert. Das Klinikum Darmstadt wird die Daten verwalten.

9.1.4. Datenvernichtung

Das Klinikum Darmstadt wird die Dateien mit den gespeicherten Informationen der Studienteilnehmer nach Ablauf der unter 9.1.3 angeführten Aufbewahrungspflicht löschen. Die Löschung beinhaltet Festplatten-Dateien auf Klinikrechnern und Sicherungskopien auf Speichermedien.

9.2. Verschlüsselung der Daten und Wahrung der ärztlichen Schweigepflicht

Die Patienten werden durch ärztliche Mitarbeiter des Klinikum Darmstadt über die Studie aufgeklärt und rekrutiert. Alle erfassen die Patientenproben mit den unter 9.1.1 erfassten Daten in pseudonymisierter Form.

Hierzu wird im Klinikum Darmstadt allen Patienten ein mehrstelliger Code, beginnend mit der Nummer 1 zugewiesen. Der Nummer wird eine Kennung für die Art der Probe und damit die Zuordnung zu dem Lungen- oder dem Darmteilprojekt beigefügt: Vor die Zahl wird entweder ein S für stool, ein UL für Urin+Lungenteilprojekt, ein UD für Urin+Darmteilprojekt oder ein B für breath gestellt.

Beispiel: Der erste Studienteilnehmer, der im Klinikum Darmstadt eine Stuhlprobe abgibt, wird folgendes Pseudonym bekommen: S1.

Alle für die biometrische Auswertung erforderlichen Daten werden tabellarisch dem Code der Patienten zugeordnet. Nur ----- bzw. Frau C. Feil verfügen über eine Liste, mittels der die Codes den Studienteilnehmern zugeordnet werden können. Die Zuordnungstabelle unterliegt der ärztlichen Schweigepflicht und wird nicht an Dritte weitergegeben. Die Liste wird ebenfalls nach 10 Jahren gelöscht.

10. Wegeunfallversicherung

Nicht zutreffend.

11. Aufklärungstext und Text der Einverständniserklärung für die Studienteilnehmer

Siehe Anhang.

12. Statistik

Es werden Sensitivität und Spezifität mit 95%-Konfidenzintervallen bestimmt. Unter Verwendung von Krebsregisterdaten werden daraus positiver und negativer prädiktiver Wert abgeschätzt.

Sensitivität und Spezifität des olfaktorischen Verfahrens kann mit Sensitivität und Spezifität der Standardverfahren mittels Kreuztabellen und McNemar-Test verglichen werden. Diese Analyse ist aber als explorativ zu verstehen.

Sollte sich herausstellen, dass bei als Kontrollen eingeschlossene Probanden im Verlauf des folgenden Jahres ein relevanter Tumor diagnostiziert wurde, werden die Berechnungen unter Ausschluss dieser Probanden – als Sensitivitätsanalyse – wiederholt.

13. Literaturverzeichnis

1. http://www.dkfz.de/de/krebsatlas/gesamt/mort_2.html
2. http://www.dkfz.de/de/krebsatlas/gesamt/mort_5.html
3. Gesundheitsberichterstattung des Bundes. In: Gesundheit in Deutschland. Juli 2006; © Berlin: Robert Koch-Institut, ISBN 3-89606-173-9
4. Ulla Schmidt: Mit „Rauchfrei 2006“ gesünder leben. Bundesministerium für Gesundheit, Pressemitteilung 20. April 2006
5. Al-Detterbeck FC, Gibson CJ. Turning gray: The natural history of lung cancer over time. J Thorac Oncol. 2008; 3: 781–792.
6. Seifart C. Lungenkrebs: Oft spät erkannt und kaum behandelbar. Pharmazeutische Zeitung. 2006; 30.

7. Sarraf N, Gately K, Lucey J, Wilson L, McGovern E, Young V. Mediastinal lymph node staging by means of positron emission tomography is less sensitive in elderly patients with non-small-cell lung cancer. Clin Lung Canc. 2008; 9: 39-43.
8. Al-Sarraf N, Gately K, Lucey J, Wilson L, McGovern E, Young V. Lymph node staging by means of positron emission tomography is less accurate in non-small cell lung cancer patients with enlarged lymph nodes: Analysis of 1145 lymph nodes. Lung Cancer. 2008; 60: 62-8.
9. Church J, Williams H. Another sniffer dog for the clinic? Lancet. 2001; 358: 930.
1. McCulloch M, Jezierski T, Broffman M, Hubbard A, Turner K, Janecki T. Diagnostic accuracy of canine scent detection in early- and late-stage lung and breast cancers. Interact Canc ther. 2006; 5: 30-9.
2. <https://www.dkfz.de/de/presse/darmkrebs-zahlen-fakten.html>
3. Boedeker E, Friedel G, Walles T. Sniffer dogs a part of a bimodal bionic research approach to develop a lung cancer screening. Interactive cardiovascular and thoracic surgery 2012; 5: 511-5

Identifikation von Lungentumoren in der Atemluft und/oder im Urin von Patienten durch den Einsatz von Spürhunden

Studienleiter

Direktor Innere Medizin
Klinikum Darmstadt GmbH
Grafenstraße 9
64283 Darmstadt

Sub-Studienleiter

Im Neuenheimer Feld 280
69120 Heidelberg

Leitender Oberarzt Sektionsleitung

Pneumologie

Charlotte Feil

Klinikum Darmstadt GmbH

Grafenstraße 9

64285 Darmstadt

INFORMATIONSBLATT

Sehr geehrte Patientin, sehr geehrter Patient,

Lungenkrebs ist eine schwierig zu diagnostizierende Erkrankung. Die besten Heilungschancen haben Patienten, bei denen die Erkrankung sehr früh entdeckt wird. Deshalb kommen bei der Untersuchung von Patienten mit einem Lungenkrebs-Verdacht in der Regel mehrere unterschiedliche Untersuchungsverfahren zum Einsatz. Leider sind die derzeit verfügbaren Untersuchungsverfahren technisch aufwendig, für die Patienten oft belastend und immer noch unzureichend. Eine Vorsorgeuntersuchung besteht nicht.

In den vergangenen Jahren wurde vereinzelt versucht, **Spürhunde** auf die Identifikation von krebsspezifischen organischen Verbindungen in der Atemluft von Patienten mit Lungentumoren zu trainieren. In mehreren wissenschaftlichen Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass die Vorhersagegenauigkeit der Spürhunde größer war, als die derzeit routinemäßig eingesetzten Untersuchungsverfahren. Allerdings sind noch viele Fragen offen, die einem klinischen Einsatz von Spürhunden in der Lungenkrebs-Diagnostik noch im Wege stehen.

Das Klinikum Darmstadt führt zusammen mit dem Lungenzentrum Darmstadt (Praxis -----), der Uniklinik Frankfurt (Abteilung Thoraxchirurgie/ Prof. Dr. -----) und dem St. Elisabethen-Krankenhaus Frankfurt (Abteilung Thoraxchirurgie/ Prof. -----) eine Untersuchung zur **Frühdagnostik von Lungenkrebs** durch. Für diese wissenschaftlichen Untersuchungen bitten wir Sie um 1. eine **Atemluft-Spende** (ca. 3 min Zeitaufwand) und 2. um eine **Urin-Spende** (ca. 3 min Zeitaufwand). Die Untersuchungen sind für Sie mit **keinen zusätzlichen Risiken oder Nebenwirkungen** verbunden. Sie werden keinen persönlichen Nutzen von der Atemluft- oder Urinspende haben. Zusätzlich benötigen wir von Ihnen für die wissenschaftliche Auswertung Angaben zu Ihrem Alter, Ihrem Rauchverhalten (Raucher/Nichtraucher) und bekannten oder vermuteten Tumorerkrankungen. Für die Studiendurchführung und -auswertung sind Atem- und Urinproben und Angaben von

700 Patienten erforderlich, diese werden maximal 12 Monate aufbewahrt.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sollen die Frage klären, ob in der Atemluft von Patienten mit Lungenkrebs bestimmte Stoffe (organische Moleküle) gemessen bzw. durch die Hunde detektiert werden können, die mit der Erkrankung des Patienten in direktem Zusammenhang stehen. Hierfür werden Hunde mittels der Proben von Lungenkrebspatienten und Kontrollpatienten konditioniert. Die Konditionierung erfolgt analog der Ausbildung von Sprengstoffspürhunden. Diese konditionierten Hunde müssen dann Proben von Patienten aus dem Studienkollektiv erkennen; hierbei werden dem Hund 4 Proben von gesunden Patienten und eine Probe eines Krebspatienten präsentiert. Im gewünschten Fall erkennt der Hund die Probe eines Krebspatienten, während er Proben von gesunden Patienten möglichst nicht erkennen soll.

Anschließend soll mithilfe des deutschen Krebsforschungszentrums eine „elektronische Nase“, ein sogenanntes Chip-Verfahren, entwickelt werden, das langfristig die Hundennase ersetzen kann, aber die gleiche Arbeit leistet und die gleichen Ergebnisse bringt.

Dadurch ist es in Zukunft vielleicht möglich, zahlreiche aufwendige und für den Patienten oft belastende Untersuchungen (z.B. Lungenspiegelung/Bronchoskopie) einzusparen. Ein einfaches Chip-Verfahren würde außerdem schneller zu einer Diagnose führen und könnte darüber hinaus als Vorsorgeuntersuchung eingesetzt werden.

So könnten künftig einfach zu gewinnende Atem- bzw. Urinproben von Patienten in der Lungenkrebsdiagnostik zur Abklärung eines pulmonalen Rundherds verwendet werden.

Dies würde die Diagnostik von Lungenkrebs vereinfachen – sowohl für den Patienten als auch für die Ärzte – und so zu einer früheren Diagnostik eines Lungenkrebses führen.

Ihre Teilnahme an dieser wissenschaftlichen Untersuchung ist **vollkommen freiwillig**. Sie können jederzeit Ihr Einverständnis zur Studienteilnahme ohne Angabe von Gründen widerrufen, ohne dass Ihnen daraus Nachteile für die weitere Behandlung entstehen. Die während dieser Untersuchung gesammelten Daten werden nur in verschlüsselter Form/anonymisiert weitergeleitet. Die Ergebnisse dieser Untersuchung sollen gegebenenfalls veröffentlicht werden. Eine Vergütung findet nicht statt.

Ihre pseudonymisierten Proben werden initial im Forschungslabor am Klinikum Darmstadt gesammelt und zur olfaktorischen sowie molekularen Detektion zielgerichtet und weiterhin pseudonymisiert zu den Analysezentren gebracht; nach Beendigung der Untersuchungen und Auswertungen (geplant Ende 2017) werden Ihre Proben vernichtet.

INFORMATION ZUM DATENSCHUTZ

Ihre im Rahmen der wissenschaftlichen Untersuchung erhobenen Daten werden vertraulich behandelt und ausschließlich in verschlüsselter Form weitergegeben.

Die für die wissenschaftliche Untersuchung wichtigen Daten werden in verschlüsselter (pseudonymisiert, ohne Namensnennung) Form in einen gesonderten Dokumentationsbogen eingetragen. Hierbei erhalten Ihre Proben eine Kennzeichnung aus Ziffern und Buchstaben, die nicht mit dem Patienten direkt in Verbindung gebracht werden kann. Die Ziffern und Buchstaben beschreiben um welches Material es sich handelt und der wievielte Patient der Studie aufgenommen wurde.

Die Zuordnung der verschlüsselten Daten zu Ihrer Person ist nur anhand einer Patientenliste möglich, die getrennt von den Studienunterlagen aufbewahrt wird und nur dem Studienleiter und den oben genannten Ärzten zugänglich ist. Die Daten werden für die Dauer von 10 Jahren im Studienbüro des Klinikum Darmstadt aufbewahrt und hiernach vernichtet. Sollten Sie von der Studie zurücktreten, können Sie entscheiden, ob die bereits vorliegenden Daten vernichtet werden müssen oder ob die bisher erhobenen Daten anonymisiert im Rahmen der Studie zur endgültigen Auswertung der Ergebnisse weiterverwendet werden dürfen. Nach Widerruf der Einwilligung werden alle von Ihnen gesammelten Proben vernichtet. Eine Weitergabe von Daten an Dritte erfolgt nicht.

EINVERSTÄNDNISERKLÄRUNG

Hiermit erkläre ich mein Einverständnis zur Teilnahme an der Studie **„Identifikation von Lungentumoren durch olfaktorische Detektion in der Atemluft und im Urin von Patienten“ mittels des Einsatzes von Spürhunden.**

Ich kann mein Einverständnis jederzeit, formlos und ohne Nachteile widerrufen. Alle Fragen zur Studie wurden zu meiner Zufriedenheit beantwortet. Eine Kopie des Informationsblattes habe ich erhalten.

Ich erkläre mich mit der Verwendung der im Rahmen der Studie erhobenen Daten in der oben beschriebenen Weise einverstanden. Ich kann jeder Zeit meine Daten beim Studienleiter einsehen und diese korrigieren.

Nachname:

Vorname:

Geburtsdatum:

Ort, Datum

Unterschrift des Patienten/ der
Patientin

Danksagung

Ein großer Dank geht an meinen Doktorvater ----- für die Überlassung des Promotionsthemas, die stets freundliche Betreuung und das Heranführen ans wissenschaftliche Arbeiten. Vielen Dank für die Beantwortung meiner zahlreichen Mails und für den jederzeit konstruktiven Rat.

Danke an Herrn ----- für die Betreuung des Projekts und dafür, dass Sie bei Fragen stets ein offenes Ohr hatten.

Danke an ----- für die finanzielle Unterstützung des Projekts und danke für das ausgesprochen professionelle sowie persönliche Engagement.

Danke auch an ----- für die statistische Beratung und Betreuung.

Sehr herzlich danke ich ----- für die Möglichkeit, auch Patienten seiner Praxis in die Studie zu inkludieren und darüber hinaus für die persönliche Unterstützung. Vielen Dank, -----.

Der größte Dank gilt meinen Eltern ----- . Vielen Dank für eure unermüdliche Unterstützung, eure Motivation und euren Glauben an mich. Danke, dass ihr mir immer helft, die Ziele in meinem Leben zu erreichen und immer für mich da seid.

Danke auch an den Rest meiner Familie, insbesondere an ----- : vielen Dank, dass ihr mir immer zugehört und gut zugeredet habt und an das Gelingen dieser Arbeit geglaubt habt.

Tabellarischer Lebenslauf