

**Aus dem Robert Bosch Krankenhaus
Klinik Schillerhöhe Gerlingen
(Akademisches Lehrkrankenhaus der Universität Tübingen)
Abteilung für Thoraxchirurgie
Chefarzt: Professor Dr. G. Friedel**

**Identifikation von Lungentumoren
aus der Atemluft von Patienten durch Einsatz von
Spürhunden – Untersuchungen zur Spezifität in
Abgrenzung zur COPD**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin**

**der Medizinischen Fakultät
der Eberhard Karls Universität
zu Tübingen**

**vorgelegt von
Enole Boedeker
aus
Berlin-Dahlem**

2011

Dekan: Professor Dr. I.B. Autenrieth

1. Berichterstatter: Privatdozent Dr. T. Walles

2. Berichterstatter: Professor Dr. Dr. F. Mayer

Inhaltsverzeichnis

Abbildungs- und Tabellenverzeichnis.....	6
Abkürzungsverzeichnis.....	8
1. Einleitung	9
1.1 Epidemiologie des Lungenkarzinoms.....	9
1.2 Pathophysiologie und Stadieneinteilung des Lungenkarzinoms	10
1.3 Diagnose der Lungenkrebserkrankung	13
1.4 Invasive Untersuchungsverfahren zur Histologiegewinnung und zum Screening ..	15
1.5 Elektronische Sensorverfahren als nicht invasive Untersuchungs- und Screeningverfahren	16
1.6 Krebserkennung durch Hunde	17
2. Material und Methoden.....	21
2.1 Studiendesign	21
2.2 Studienteilnehmer	21
2.3 Lungenfunktionsuntersuchung	24
2.4 Gruppeneinteilungen.....	24
2.5 Probenröhrchen	25
2.6 Probensammlung.....	26
2.7 Versuchsaufbau in Trainings- und Testphase	26
2.8 Spürhunde	27
2.9 Konditionierung der Spürhunde.....	27
2.10 Testabläufe	30
2.11 Statistische Auswertung.....	33
3. Ergebnisse	34
3.1 Zusammensetzungen der Untersuchungsgruppen.....	34
3.2 Lungenfunktionen	37
3.3 Probenalter	39
3.4 Probengewinnung von Patienten mit Lungenkrebserkrankung.....	39
3.5 Krebserkrankungen.....	40
3.6 Hundetraining	41
3.7 Tests.....	41
3.8 Nebenerkrankungen	45
3.9 Medikamente als Störfaktoren.....	46
3.10 Zeitpunkt der Probenentnahme (vor oder nach histologischer Sicherung).....	48

4. Diskussion	49
4.1 Volatile organische Verbindungen zur Diagnose des Lungenkrebs.....	49
4.2 Spürhunde zur Krebserkennung	50
4.3 Hundetraining	51
4.4 Störfaktoren	54
4.5 Einsatz der Spürhunde zur Früherkennung von Lungenkarzinomen in der klinischen Praxis	54
4.6 Krebserkennung mittels elektronischer Nase	55
4.7 Ausblick	57
5. Zusammenfassung	59
6. Literaturverzeichnis	61
7. Anhang	66
7.1 Konditionierungsprotokoll der Spürhunde	66
7.1.1 Auswahl geeigneter Hunde	66
7.1.2 Räumliche Voraussetzungen	66
7.1.3 "Clicker"-Methode	67
7.1.4 Trainingsaufbau	67
7.1.5 Testbedingungen	68
7.1.6 Limitationen.....	68
7.2 Hundenase	69
7.2.1 Anatomie.....	69
7.2.2 Histologie	73
7.2.3 Olfaktorische Rezeptorgene.....	76
7.2.4 Atemmechanik	76
7.2.5 Zentrale Geruchsbahnen.....	77
7.3 Medikamenteneinnahme der Studienteilnehmer	79
8. Danksagung	84
9. Tabellarischer Lebenslauf	86

Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

Abbildungen

Abb. 1	Geschätzte Zahl und Rate jährlicher Lungenkrebserkrankungen in Deutschland	10
Abb. 2	Prozentuale Verteilung der häufigsten histologischen Typen des Lungenkarzinoms	11
Abb. 3	Computertomographie und PET/CT eines Lungenkarzinoms	15
Abb. 4	Erhebungsbogen für die Studienteilnahme	23
Abb. 5	Einteilung der Studienteilnehmer	24
Abb. 6	Herstellung der Probenröhrchen	25
Abb. 7	Verwendung eines „Clickers“	28
Abb. 8	Versuchsaufbau	32
Abb. 9	Verteilung der Atemproben in Trainings- und Testphase	34
Abb. 10	Histologische Subtypisierung bei Patienten der Trainings- und Testphase	40
Abb. 11	Verteilung der Tumorstadien in Trainings- und Testphase	41
Abb. 12	Der Luftweg in der Hundennase	70
Abb. 13	Eine sagittale Sektion des nasalen Luftweges vom Hund	72
Abb. 14	Eine sagittale Sicht auf den menschlichen nasalen Luftweg	73
Abb. 15	Schematische Darstellung des Riechepithels mit den von olfaktorischen Hüllzellen umgebenen Axonen auf ihrem Weg zum Bulbus olfactorius	75
Abb. 16	Medikamenteneinnahme der gesunden Probanden	81
Abb. 17	Medikamenteneinnahme der Patienten mit COPD	82
Abb. 18	Medikamenteneinnahme der Patienten mit Lungenkrebs	83

Tabellen

Tab. 1	TNM-Klassifikation und Stadieneinteilung des Lungenkarzinom	12
Tab. 2	Prognose des Lungenkarzinoms	13
Tab. 3	Mögliche Methoden der Früherkennung	16
Tab. 4	Literaturübersicht über zur Detektion von malignen Tumoren durch den Geruchssinn von Hunden	19
Tab. 5	Ein- und Ausschlusskriterien	22
Tab. 6	Aufstellung der teilnehmenden Hunde	27
Tab. 7	Trainingsphasen	29
Tab. 8	Anzahl verwendeter Probenröhrchen	31
Tab. 9	Zusammensetzung der Gruppen in Trainings- und Testphase	35
Tab. 10	Verteilung der Lungenfunktionsparameter in den Gruppen der Trainings- und Testphase	38
Tab. 11	Alter der Probenröhrchen in den Testgruppen	39
Tab. 12	Anzeige der Hunde in den einzelnen Durchgängen der Tests	42
Tab. 13	Ergebnisse Test 1	42
Tab. 14	Ergebnisse Test 2	42
Tab. 15	Ergebnisse Test 3	43
Tab. 16	Anzeigen der Hunde: Sensitivität, Spezifität, PPV und NPV	43
Tab. 17	Ergebnis bei Wertung der Proben, die von mindestens drei Hunden angezeigt wurden	44
Tab. 18	Ergebnis aufgeteilt in Probenalter kleiner bzw. größer 40 Tage	44
Tab. 19	Nebenerkrankungen mit inhomogener Verteilung	45
Tab. 20	Medikamente mit inhomogener Verteilung	47
Tab. 21	Medikamente als mögliche Störfaktoren in der logistischen Regressions-Analyse	48

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
CI	Konfidenzintervall
COPD	chronic obstructive pulmonal disease (deutsch: chronisch obstruktive Lungenerkrankung)
CT	Computertomographie
d	Tage
FEV1	Sekundenkapazität: Volumen, dass in einer Sekunde maximal forciert ausgeatmet wird
FEV1/ VC	Relative Sekundenkapazität: Sekundenkapazität/ Vitalkapazität
J	Jahre
m	männlich
n	Anzahl
n.s.	nicht signifikant
NPV	Negative Predictive Value (deutsch: Negativer Vorhersagewert)
PPV	Positive Predictive Value (deutsch: Positiver Vorhersagewert)
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
PET/ CT	Fusionierte Bilder aus Positronen-Emissions-Tomographie und Computertomographie
RV	Reservevolumen: Gasvolumen in der Lunge bei maximaler Expiration
Tab.	Tabelle
TLC	Totale Lungenkapazität: Gasvolumen in der Lunge bei maximaler Inspiration
UICC	union internationale contre le cancer (deutsch: internationale Vereinigung gegen Krebs): internationale Organisation mit Sitz in der Schweiz, die sich der Erforschung, Prävention und Behandlung von Krebserkrankungen widmet
VC	Vitalkapazität: Volumendifferenz zwischen maximaler Inspiration und maximaler Expiration
w	weiblich

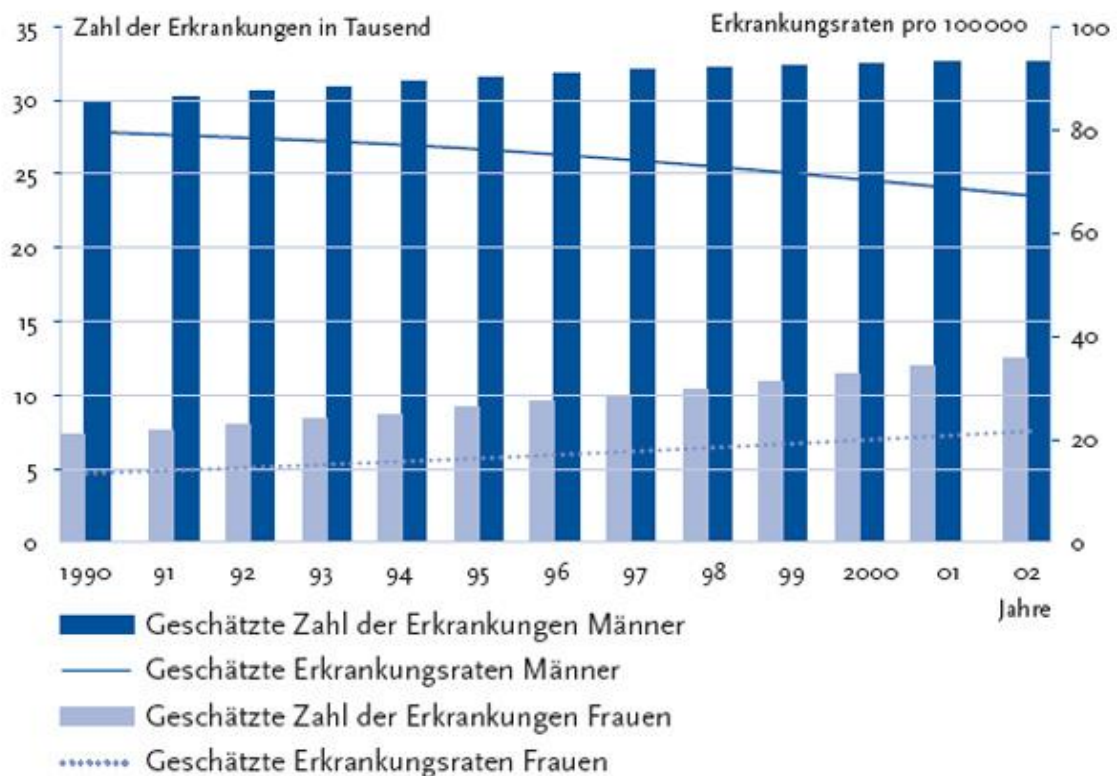
1. Einleitung

1.1 Epidemiologie des Lungenkarzinoms

Die Inzidenz des Lungenkarzinoms liegt in Deutschland bei ca. 32 000 Männern und 13 000 Frauen jährlich [46]. Lungenkrebs ist die dritthäufigste Tumorerkrankung in Deutschland. Männer sind noch wesentlich mehr betroffen als Frauen. Aufgrund des gesteigerten Zigarettenkonsums der Frauen nimmt aber die Zahl der Neuerkrankungen unter Frauen deutlich zu. Auf das Alter bezogen nimmt die Zahl der Neuerkrankungen unter Männern ab. Aufgrund der erhöhten Lebenserwartung nimmt die absolute Zahl der Neuerkrankungen jedoch auch unter Männern zu [18] (Abb. 1), was bei einer zunehmenden Überalterung der Gesellschaft prognostisch zu einer zunehmenden Prävalenz führen wird. Lungenkrebs ist weltweit die häufigste Todesursache bei Menschen mit Krebserkrankungen [27, 30, 35]. Die Mortalität beträgt in Deutschland 40 000 Todesfälle jährlich und macht damit die vierthäufigste Todesursache und die häufigste Krebstodesursache aus [53]. Obwohl das Lungenkarzinom in Deutschland bei Männern der zweithäufigste Tumor nach dem Prostatakarzinom ist, verursacht es die meisten Krebstodesfälle [46]. Bei Frauen ist das Lungenkarzinom in Deutschland der dritthäufigste Tumor nach dem Mammakarzinom sowie den kolorektalen Tumoren [46].

Eine entscheidende Rolle bei der Entstehung der Lungenkrebserkrankung spielt die Inhalation von Zigarettenrauch. Nur 9% bis 15% des Lungenkarzinoms sind auf andere Ursachen als Zigarettenrauch zurückzuführen [23]. Entsprechend dem regional verstärkten Rauchen ist die Prävalenz des Lungenkarzinoms in entwickelten Ländern wie Nordamerika und Europa erhöht. Die Erkrankungshäufigkeit nimmt jedoch in den Entwicklungsländern zu, während sie in den entwickelten Ländern langsam abnimmt [1, 59].

Abb. 1: Geschätzte Zahl und Rate jährlicher Lungenkrebserkrankungen in Deutschland (Quelle: Dachdokumentation Krebs) [18]

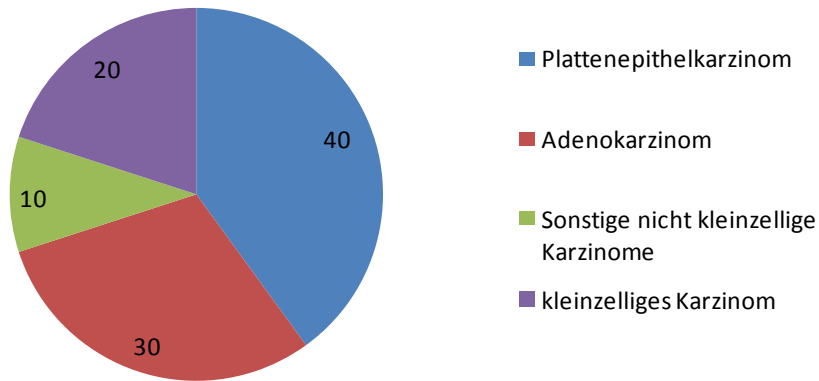


1.2 Pathophysiologie und Stadieneinteilung des Lungenkarzinoms

Lungenkrebs kann aus verschiedenen Gewebearten der Lunge entstehen. In Abhängigkeit vom jeweiligen Ursprungsgewebe werden deshalb verschiedene histologische Typen unterschieden. Aufgrund der unterschiedlichen biologischen Eigenschaften wird das Lungenkarzinom in den nicht kleinzelligen und kleinzelligen Typ unterteilt [23]. Zu den nicht kleinzelligen Karzinomen zählen das Adenokarzinom, das Plattenepithelkarzinom, und seltene Formen wie zum Beispiel das großzellige Karzinom, das sarkomatoide Karzinom, das undifferenzierte Karzinom und das mukoepidermoide Karzinom. Mehr als 30% aller Lungenkarzinome weisen verschiedene histologische Typen auf [23]. Die Häufigkeit der einzelnen histologischen Typen ist in Abb. 2 aufgezeigt.

Abb. 2: Prozentuale Verteilung der häufigsten histologischen Typen des Lungenkarzinoms [23]

Häufigkeit in %



Die TNM-Klassifikation und Stadieneinteilung des Lungenkarzinoms nach UICC wurde 2009 neu überarbeitet und liegt jetzt in der 7. Auflage vor (Tab. 1) [20]. Die Stadieneinteilung (IA-IV) hilft bei der Erforschung und Abschätzung der Prognose von Patienten, die an Lungenkrebs erkrankt sind.

Tab. 1: TNM-Klassifikation und Stadieneinteilung (IA-IV) des Lungenkarzinom nach UICC, 7. Auflage [20]

	T1		T2		T3	T4	M1	
	T1a	T1b	T2a	T2b			M1a	M1b
N0	IA	IA	IB	IIA	IIB	IIIA	IV	IV
N1	IIA	IIA	IIA	IIB	IIIA	IIIA	IV	IV
N2	IIIA	IIIA	IIIA	IIIA	IIIA	IIIB	IV	IV
N3	IIIB	IIIB	IIIB	IIIB	IIIB	IIIB	IV	IV
M1	M1a	IV	IV	IV	IV	IV		
	M1b	IV	IV	IV	IV	IV		

T1: Tumor ≤ 3 cm, umgeben von Lungengewebe oder viszeraler Pleura, keine Infiltration proximal eines Lappenbronchus

T1a: Tumor < 2 cm

T1b: Tumor 2-3 cm

T2: Tumor > 3cm und kleiner 7 cm oder befällt Hauptbronchus mindestens 2 cm distal der Hauptkarina oder infiltriert viszerale Pleura oder assoziierte Atelektase/ obstruktive Entzündung bis zum Hilus, aber nicht der ganzen Lunge

T2a: Tumor > 3 cm ≤ 5 cm

T2b: Tumor > 5 cm < 7 cm

T3: Tumor > 7 cm oder Infiltration der Brustwand, des Zwerchfells, mediastinaler Pleura oder Nervus phrenicus oder Tumor < 2 cm distal der Carina, Carina aber nicht befallen oder mit Atelektase oder obstruktiver Entzündung der gesamten Lunge oder mehrere Tumorherde im gleichen Lappen

T4: Infiltration von Herz, große Gefäße, Trachea, Oesophagus, Wirbelkörper, Carina oder Stimmbandlähmung oder separater Tumorherd in einem anderen ipsilateralen Lappen

N0: keine Lymphknotenmetastasen

N1: Intrapulmonale, peribronchiale oder hiläre Lymphknotenmetastasen

N2: ipsilaterale mediastinale oder subkarinale Lymphknotenmetastasen

N3: Kontralaterale mediastinale oder hiläre Lymphknotenmetastasen, Skalenus- oder supraclaviculäre Lymphknotenmetastasen beidseits

M1: Metastasen

M1a: Tumorherde in kontralateraler Lunge oder Pleurakarzinose, maligner Pleura- oder Perikarderguss

M1b: Fernmetastasen

UICC: union internationale contre le cancer

Die Prognose wird als 5-Jahres-Überlebensrate oder mittlere Überlebenszeit angegeben. Die 5-Jahres-Überlebensrate ist der Prozentsatz aller Erkrankten, der fünf Jahre nach Diagnosestellung noch lebt. Die mittlere Überlebenszeit beschreibt die Zeit, die ein Erkrankter im Durchschnitt nach Diagnosestellung noch lebt. Die Prognose der einzelnen Tumorstadien des nicht kleinzelligen Lungenkarzinoms wird in Tab. 2 abgebildet [23]. Sie verschlechtert sich mit zunehmendem Tumorstadium.

Tab. 2: Prognose des Lungenkarzinoms [23]

Stadium nach UICC	5-Jahres-Überleben	Mittleres Überleben in Monaten
IA	73%	119
IB	54%	70
IIA	48%	54
IIB	38%	33
IIIA	25%	23
IIIB	19%	16
IV	21%	18

UICC=Union internationale contre le cancer

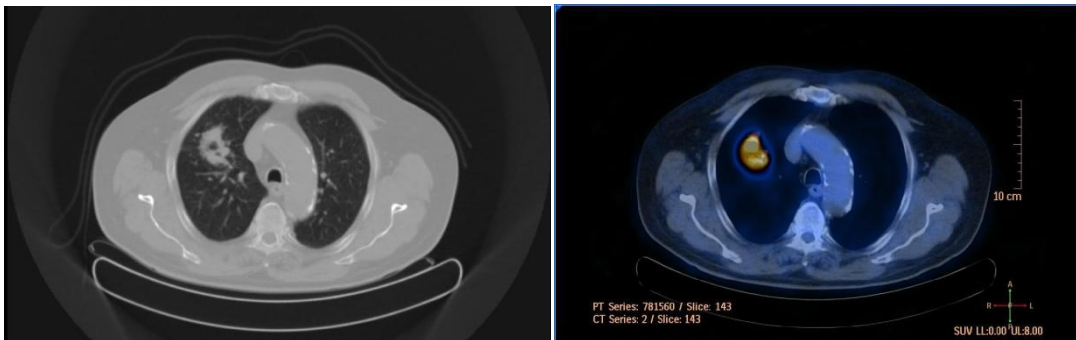
1.3 Diagnose der Lungenkrebserkrankung

Unbehandelt führt die Erkrankung durchschnittlich über alle Stadien hinweg innerhalb von 10 Monaten zum Tod des Patienten [15]. Die frühe Tumorerkennung sichert bei stadienentsprechender Therapie ein längeres Überleben. Die besten Überlebensaussichten (Heilung bzw. Lebensverlängerung um mehrere Jahre) haben Patienten, die aufgrund eines niedrigen Tumorstadiums operiert werden können [2, 50]. Dies sind 30-40% der Patienten. Mit der frühen Erkennung und Behandlung verbessert sich die 5-Jahres-Überlebensrate deutlich von ca. 20% im Stadium III des Lungenkarzinoms auf ca. 70% im Stadium I der Erkrankung [23] (Tab. 2). Die verbesserte Prognose setzt jedoch eine frühzeitige Identifizierung der meist

nicht symptomatischen Patienten voraus. Hierbei kommen vor allem bildgebende Verfahren (Röntgen-Thorax, Computertomographie) zum Einsatz (Abb. 3A). In der Internationalen Screening Studie Early Lung Cancer Action Project (I-ELCAP) wurde durch Low Dose Computertomographien eine fast sechsfach höhere Zahl von Stadium I Lungenkarzinomen entdeckt als im Röntgenbild des Thorax. Die meisten der entdeckten Tumoren waren nicht größer als 1 cm [24]. Im Allgemeinen hat die Computertomographie des Thorax einen hohen negativ prädiktiven Wert (99,4-99,9%) mit einem mäßigen positiv prädiktiven Wert (2,7-18%). Das bedeutet, wenn kein Herd zu sehen ist, liegt mit hoher Wahrscheinlichkeit auch kein Lungenkarzinom vor. Ist aber ein Herd zu sehen, ist die Wahrscheinlichkeit, dass es sich tatsächlich um Lungenkrebs handelt gering. Basierend auf den Ergebnissen der verfügbaren Studien wird das Computertomographie-basierte Lungenkrebs-Screening derzeit von Experten nicht empfohlen [27].

In jüngerer Zeit wurde die Positronen-Emissions-Tomographie (PET) als bildgebendes Verfahren der Nuklearmedizin vermehrt als Staginginstrument eingesetzt. Sie erzeugt fusioniert mit der Computertomographie (PET/CT) Schnittbilder, in denen die Verteilung einer schwach radioaktiv markierten Substanz (Radiopharmakon) im Organismus dargestellt und damit biochemische und physiologische Funktionen sichtbar gemacht werden (funktionelle Bildgebung) (Abb. 3B). Dabei wird meist das Radiopharmakon ^{18}F -Fluordesoxyglucose verwendet, das vermehrt in Geweben mit erhöhtem Stoffwechsel umgesetzt wird. Klinische Studien zeigen, dass die durch das PET gegebenen Möglichkeiten, Lungentumoren eindeutig und frühzeitig zu identifizieren, begrenzt sind [3, 4]. So wird das radioaktiv markierte Molekül auch in entzündetem Gewebe vermehrt umgesetzt. Bei Tumoren unter 1 cm ist die Sensitivität des PET deutlich geringer. Auch in langsam wachsenden Karzinomen reichert das Radiopharmakon deutlich schlechter an [7, 31].

Abb. 3: Computertomographie (A) und PET/CT (B) eines Lungenkarzinoms



A

B

1.4 Invasive Untersuchungsverfahren zur Histologiegewinnung und zum Screening

Um Tumoren, die mit radiologischen Verfahren entdeckt wurden, histologisch zu sichern sind invasive Verfahren (Bronchoskopie, bildgesteuerte Punktion) erforderlich. Die vorhandenen diagnostischen Methoden sind technisch aufwendig, kostenintensiv und nur bedingt sicher.

Kostengünstige und wenig invasive Früherkennungsmethoden (s. Tab. 3) für das Lungenkarzinom gibt es nicht. In den Interdisziplinären S3-Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Pneumologie und Beatmungsmedizin und der Deutschen Krebsgesellschaft zur Prävention, Diagnostik, Therapie und Nachsorge des Lungenkarzinoms (2010) wird derzeit das Screening auf das Vorliegen von Lungenkrebs bei Risikopatienten mit den in Tab. 3 genannten Methoden nicht empfohlen. Nach Auffassung dieser aktuellen Leitlinien ist das Screening mit Low Dose CT prospektiven, kontrollierten, randomisierten Studie vorbehalten [28]. Die genauere Abklärung bei noch kleinen, oft zufällig in der Computertomographie des Thorax entdeckten Herden, ist schwierig. Nach Risikoabwägung greift man mitunter auf die für den betroffenen Patienten psychisch belastende Beobachtung des Lungenherdes zurück [32, 40].

Tab. 3: Mögliche Methoden der Früherkennung

Diagnostik	Vorteil	Nachteil
Rö Thorax [34]	Vermehrte Detektion nicht kleinzelliger Lungenkarzinome	Keine Mortalitätsreduktion, Frühstadien werden oft nicht erkannt
Low Dose Spiral-CT Thorax [51]	Bei max. 2.7% der untersuchten Risikoprobanden wird ein nicht kleinzelliges Lungenkarzinom diagnostiziert, Anteil Stadium I 55-93%	34% invasive diagnostische Maßnahmen bei benignen Läsionen wegen niedriger Spezifität der Methode
Sputumzytologie [34]	Teilweise Nachweis asymptomatischer Karzinome	Kein Überlebensvorteil nachweisbar
Bronchoskopie	Teilweise histologischer Nachweis möglich	Aufgrund der Invasivität zur Frühdiagnostik bei asymptomatischen Patienten nicht geeignet, ohne Kombination mit radiologischen Verfahren nur endobronchiale Tumoren erfassbar
Tumormarker [49]		Bei Bestimmung von CRP, SCC, CEA, NSE, CYFRA 21-1, M2-PK: Positiv prädiktiver Wert nur 23%

1.5 Elektronische Sensorverfahren als nicht invasive Untersuchungs- und Screeningverfahren

Zur Analyse von Atemluft wurden verschiedene technische Verfahren entwickelt, die auch zur Diagnostik von Lungenkrebs erprobt wurden:

- a) die Ionenmobilitätsspektrometrie [58]
- b) die Kombination der Protonen-Transfer-Massenspektrometrie mit der Gaschromatographie-Massenspektrometrie [5]
- c) die Analyse von Atemluftkondensaten [25]
- d) die chemische Mustererkennung mit dem Messgerät Cyranose®320 [17]

Bei der Ionenmobilitätsspektrometrie korrelieren bestimmte Peaks in abgebildeten Mustern mit der Diagnose Lungenkrebs. Das Verfahren befindet sich noch in der Erprobung und wird noch nicht klinisch angewendet [58]. Durch

die Kombination von Protonen-Transfer-Massenspektrometrie mit Gaschromatographie-Massenspektrometrie konnten verschiedene Stoffe identifiziert werden, die sich bei Patienten mit einem Lungenkarzinom in ihrer Konzentration unterscheiden im Vergleich zu Gesunden, das Verfahren ist für eine breite Anwendung jedoch zu aufwendig [5]. Das gleiche Problem besteht momentan auch bei der Analyse von Atemluftkondensaten [25]. Das Gerät Cyranose®320 funktioniert auf der Basis einer chemischen Mustererkennung. Auch dieses befindet sich noch in der Erprobung und wird noch nicht klinisch angewendet [17].

1.6 Krebserkennung durch Hunde

Eine anfängliche Idee, dass Hunde Krebserkrankungen beim Menschen erkennen können, entstand durch Einzelfallbeobachtungen. In der Literatur wurde 1989 und 2001 erwähnt, dass Patienten von Hunden, die sie als Haustiere hielten, durch auffallend häufiges Schnüffeln auf maligne Hauterkrankungen aufmerksam gemacht wurden [11, 60]. In Florida, USA, schloss sich daraufhin ein Dermatologe mit einem pensionierten Hundetrainer zusammen: Zwei Hunde wurden erfolgreich trainiert, maligne Melanome auf der Haut von Erkrankten zu erkennen [29, 43].

Als nächstes wurde versucht, Hunde auf die Identifikation von krebsspezifischen organischen Verbindungen im Urin zu trainieren. Dies gelang bei Patienten mit Blasenkrebs mit einem Ergebnis, das deutlich über der Zufallsquote lag [61].

Ein weiterer Fallbericht beschrieb 2004, wie ein Hund seine Besitzerin durch Schnüffeln an der Brust auf ein Mammakarzinom aufmerksam machte [57].

Weiterhin wurde 2006 über eine Versuchsordnung berichtet, bei der auf Atemproben von Patienten konditionierte Hunde Lungen- und Brustkrebs erkennen sollten [36]. Dabei übertrafen sie verschiedene bildgebende Verfahren mit einer Spezifität und Sensitivität von 99%.

Ohne Erfolg blieb das Training von Hunden auf Urinproben von Patienten mit Prostata- und Brustkrebs [21].

Einem einzelnen Hund gelang nach Training durch Schnüffeln an Gewebeproben das Ovarialkarzinom von nicht erkranktem Gewebe und auch nicht erkrankten postmenopausalen Ovarien zu unterscheiden [25]. Der selbe Autor berichtete zudem über das Training von je einem Hund auf Blut bzw. Tumorgewebe von Patienten mit Ovarialkarzinomen. Beide Hunde seien in der Lage gewesen, die Erkrankung sowohl aus dem Blut, als auch am Tumorgewebe zu erkennen, obwohl sie jeweils nur auf eines der beiden Substrate trainiert wurden. Eine Unterscheidung gegenüber anderen Tumorarten (Cervix und Corpus uteri Karzinome sowie Vulvakarzinome) soll ebenfalls möglich gewesen sein [26].

Insgesamt schien das Training von Hunden auf Gewebe- oder Atemproben erfolgversprechender zu sein als das Training auf Urinproben, wenn der Tumor nicht unmittelbar mit den Harnwegen in Verbindung stand.

Eine Übersicht dieser Publikationen zeigt Tab. 4.

Tab. 4: Literaturübersicht zur Detektion von malignen Tumoren durch den Geruchssinn von Hunden

Verfasser	Jahr	Studientyp	Untersucher Tumor	Anzahl der Studienteilnehmer	Substrat	Referenz
Williams H	1989	Einzel Fallbericht	Malignes Melanom	1	direkter Körperkontakt: Haut	[60]
Church J	2001	Einzel Fallbericht	Basalzellkarzinom der Haut	1	direkter Körperkontakt: Haut	[11]
Pickel DP	2004	Prospektive Studie	Malignes Melanom	7	direkter Körperkontakt: Haut	[43]
Willis CM	2004	Prospektive Studie	Blasenkarzinom	36 mit/ 108 ohne Karzinom (zum Teil mit Zystitis...)	Urin	[61]
Welsh JS	2004	Einzel Fallbericht	Mammakarzinom	1	direkter Körperkontakt: Brust	[57]
McCulloch M	2006	Prospektive Studie	Lungenkarzinom, Mammakarzinom	55 mit Lungenkarzinom/ 31 mit Mammakarzinom/ 83 Gesunde	Atem	[36]
Gordon RT	2008	Prospektive Studie	Prostatakarzinom, Mammakarzinom	62 mit Mammakarzinom/ 188 Gesunde, 57 mit Prostatakarzinom/ 186 Gesunde	Urin	[21]
Horvath G	2008	Prospektive Studie	Ovarialkarzinom	31 mit Ovarialkarzinom/ ? Gesunde	Gewebeprobe	[25]
Horvath G	2010	Prospektive Studie	Ovarialkarzinom	40 mit Ovarial-, 4 Corpus-, 2 Zervix-, 2 Vulvakarzinome/ ? Gesunde	Gewebeprobe und Blut	[26]

Die veröffentlichten Studienergebnisse lassen sich aus folgenden Gründen nur mit Einschränkungen auf die klinische Praxis übertragen:

- I) Teilweise war das Hundetraining nicht standardisiert [21].
- II) Nicht erfasste Nebenerkrankungen und Medikamenteneinnahme können einen Einfluss auf das Erkennen von Lungenkrebs durch Spürhunde aus Atemproben haben [37].
- III) Da Lungen- und Mammakarzinome jeweils vor der Probengewinnung gesichert wurden, könnte auch die Entnahme der Biopsie oder hierdurch ausgelöste Reaktionen zum Beispiel des Immunsystems und nicht der Tumor selbst durch die Hunde erkannt worden sein [37].

Weiterhin ist bisher nicht geklärt, ob Hunde aus Atemproben chronisch entzündliche Lungenerkrankungen, die oft mit Lungenkrebs assoziiert sind, vom Lungenkarzinom unterscheiden können [36].

Daraus ergaben sich für die vorliegende Untersuchung folgende Fragen:

- 1. Können Hunde tatsächlich Lungenkrebs in der Atemluft identifizieren?
- 2. Beeinflussen chronisch entzündliche Lungenerkrankungen die Identifikation?
- 3. Beeinflusst eine Atemprobenentnahme nach einer Tumorbiopsie die Erkennung?
- 4. Haben Nebenerkrankungen oder Medikamenteneinnahme einen Einfluss auf die Identifikation von Lungenkarzinomen?

2. Material und Methoden

2.1 Studiendesign

Wir führten eine prospektive interventionelle klinische Studie mit drei Untersuchungsarmen durch. Das Studienprotokoll wurde von den zuständigen Ethikkommissionen der Universitätsklinik Tübingen [Projekt-Nr. 434/2009BO1] und der Ärztekammer Baden-Württemberg [Projekt-Nr. B-F-2010-004] freigegeben und in dem internationalen Studienregister *Clinical Trials* [Registrier-Nr. NCT01141842] eingetragen.

Die Studie wurde zusammen mit dem Studienbüro der Abteilung für Thoraxchirurgie¹ der Klinik Schillerhöhe geplant, organisiert, durchgeführt, ausgewertet und archiviert.

2.2 Studienteilnehmer

Die Studienteilnehmer waren

- a) Patienten der Abteilung für Thoraxchirurgie der Klinik Schillerhöhe
- b) Patienten der Abteilung für Pneumologie der Klinik Schillerhöhe,
- c) Patienten der pneumologischen Praxis Dr. Heimann/ Dr. Ehmman/ Dr. Eulenbruch in Stuttgart,
- d) Mitarbeiter der Klinik Schillerhöhe,
- e) freiwillige gesunde Personen, die sich in der Praxis Dr. Heimann/ Dr. Ehmman/ Dr. Eulenbruch vorstellten.

¹ Das Studienbüro der Abteilung für Thoraxchirurgie wurde mit öffentlichen Fördermitteln des Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) für die Organisation und Durchführung einer klinischen Studie an der Klinik Schillerhöhe eingerichtet.

Alle Studienteilnehmer erfüllten die Ein- und Ausschlusskriterien (Tab. 5).

Tab. 5: Ein- und Ausschlusskriterien

	Gruppe „Krebs“	Gruppe „Gesund“	Gruppe „COPD“
Einschluss- kriterien	Einwilligungsfähigkeit und Volljährigkeit		
	Gesichertes Lungenkarzinom	Unauffällige Lungenfunktion	Pathologische Lungenfunktion
			COPD in der Anamnese
Ausschluss- kriterien	Bronchoskopie oder computertomographisch gesteuerte Punktion vor Probenentnahme		
	Andere maligne Erkrankung	Maligne Erkrankung	Maligne Erkrankung

Von allen Studienteilnehmern wurden folgende Daten aufgenommen: Alter, Geschlecht, Größe, Gewicht, Vorerkrankungen, Medikamenteneinnahme (Kap. 7.3 Abb. 16, 17, 18), Lungenfunktionsparameter, aktueller Zigarettenkonsum. Für die Datenerfassung wurde folgender Erhebungsbogen verwendet (Abb. 4):

Abb. 4: Erhebungsbogen für die Studienteilnahme

Dokumentationsbogen Lungenzentrum		
Patientenname:	_____	
Geburtsdatum:	_____	
Probennummer:	_ _ _ _	
<hr/>		
Einschlusskriterien:		
<small>ist eine Frage mit „nein“ zu beantworten, so ist der Patient von der Studie auszuschliessen</small>		
	ja	nein
über 18 Jahre	0	0
einwilligungsfähig	0	0
Vorliegen der unterschriebenen Einverständniserklärung	0	0
Ausschlusskriterien:		
<small>ist eine Frage mit „ja“ zu beantworten, so ist der Patient von der Studie auszuschliessen</small>		
	ja	nein
maligne Erkrankung in der Vorgeschichte	0	0
<hr/>		
Begleiterkrankungen:		
Medikamente:		
heute eingenommene Medikamente:		

Bei Patienten mit Lungenkrebs wurde zusätzlich erfasst, ob die Histologie vor oder nach Abgabe der Atemprobe gewonnen wurde sowie der histologische Tumortyp und das Tumorstadium.

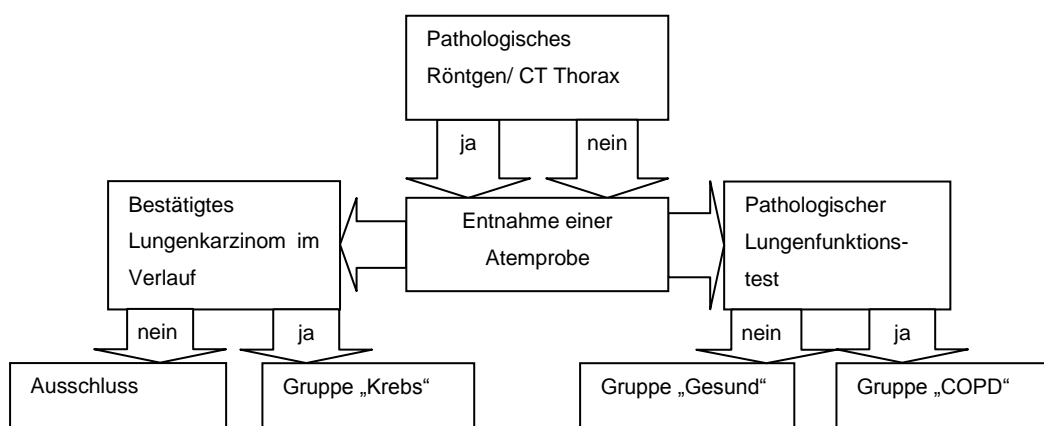
2.3 Lungenfunktionsuntersuchung

Die Untersuchungen erfolgten an beiden Standorten (Klinik Schillerhöhe in Gerlingen und Praxis Dr. Heimann/ Dr. Ehmman/ Dr. Eulenbruch in Stuttgart) mit dem Bodyplethysmographen Master Screen Body der Firma Jäger (Höchberg, Deutschland). Erfasst wurden die Vitalkapazität, 1-Sekundenkapazität, relative Sekundenkapazität, Totale Lungenkapazität und das Reservevolumen [36]. Eine obstruktive Ventilationsstörung wurde angenommen, wenn die Sekundenkapazität (FEV1) < 70%, der Quotient aus Sekundenkapazität und Vitalkapazität (FEV1/VC) < 70% war. Als Überblähung der Lunge galt eine totale Lungenkapazität (TLC) > 120%, ein Reservevolumen (RV) > 120% [40].

2.4 Gruppeneinteilungen

Die Studienteilnehmer wurden auf der Basis der erhobenen Parameter in die Gruppen „Krebs“, „Gesund“ und „COPD“ eingeteilt. Die Untersuchungsergebnisse der Bodyplethysmographie dienten zur Einteilung in die Gruppen „COPD“ und „Gesund“ (FEV1, FEV1/ VC, RV, TLC) (Abb. 5).

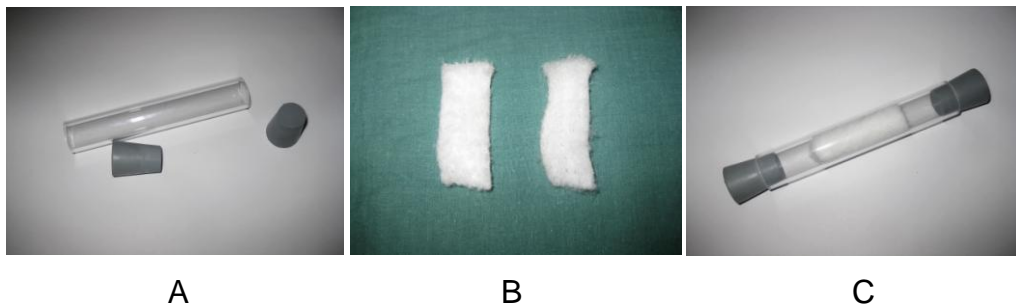
Abb. 5: Einteilung der Studienteilnehmer



2.5 Probenröhrchen

Für die Probenröhrchen wurden Duranglasröhrchen mit einem Durchmesser von 22 mm, einer Glasdicke von 1,8 mm und einer Länge von 120 mm mit beidseitigem Gummistopfen (17 x 23 x 30 mm) von der Firma Gaßner Glastechnik GmbH (Haderunstr.4, 81375 München) bestellt (Abb. 6A). Für die Füllung wurde Polypropylenwatte (Firma Asota Ges.m.b.H., Schachenmayerstr. 22, A-4021 Linz, Österreich) verwendet. Die Watte wurde zur Hälfte jeweils hydrophil und hydrophob silikonisiert (Firma CHT BEZEMA, CHT R. BEITLICH GMBH, Bismarckstr. 102, D-72072 Tübingen). Je ein 6 mal 2,5 cm großer Streifen der Watte wurden aufeinander gelegt, zusammen gerollt und in die Glasröhrchen gesteckt (Abb. 6B und C).

Abb. 6: Herstellung der Probenröhrchen



- A Glasröhrchen und Gummistopfen
- B Je ein hydrophil bzw. hydrophob silikonisierter Polypropylenwattestreifen
- C Fertiges Probenröhrchen

Alle Probenröhrchen wurden in unveränderter Vorgehensweise von den gleichen drei Personen hergestellt. Zur Reduzierung einer möglichen Geruchskontamination wurden bei der Herstellung Handschuhe getragen. Die fertigen Röhrchen wurden bei Zimmertemperatur in Kartons unter Lichtausschluss in der Praxis Dr. Heimann/ Dr. Ehmman/ Dr. Eulenbruch sowie im chirurgischen Stadiensekretariat der Klinik Schillerhöhe gelagert.

2.6 Probensammlung

Dazu wurden beide Gummistopfen abgenommen (Abb. 7B). Die Studienteilnehmer atmeten jeweils mindestens fünf Mal nach maximaler Inspiration langsam und vollständig durch das Röhrchen aus. Um auch den alveolären Anteil der Atemluft zu erfassen, wurden die Probanden aufgefordert möglichst weit auszuatmen. Zur Aufbewahrung wurde das Röhrchen wieder mit den Stopfen verschlossen und bei Raumtemperatur gelagert.

2.7 Versuchsaufbau in Trainings- und Testphase

Das Hundetraining und die anschließenden Tests fanden in einem ausschließlich hierfür genutzten Raum im Hundezentrum TEAMCANIN in Löffingen statt [46]. Für das Training und die Tests wurden jeweils fünf Probenröhrchen in speziell angefertigte Metallrohrhalterungen gestellt, die auf Betonplatten befestigt waren. Die Probenständer wurden kreisförmig und mit ausreichend Abstand dazwischen angeordnet (Abb. 8C).

Der obere Gummistopfen wurde vom Glasröhrchen abgenommen, so dass die Hunde am oberen Ende schnüffeln konnten. Das untere Ende des Probenröhrchens blieb mit dem Gummistopfen verschlossen. Das Etikett mit der Patientenidentifikation steckte im Metallrohr des Ständers. In den Trainingsläufen wurden in eine der Halterungen ein Probenröhrchen mit einer Atemprobe eines Patienten mit Lungenkrebs (Positivprobe) und in die übrigen vier jeweils ein Probenröhrchen von Atemproben gesunder Studienteilnehmer gestellt. Die Position der Positivprobe wurde durch Würfeln randomisiert (Abb. 8D). Erst in der Testphase wurden ohne weiteres Training anstatt der Atemproben von Gesunden auch Atemproben von Patienten mit COPD verwendet.

2.8 Spürhunde

Fünf Familienhunde im Alter von 2,5 bis 4 Jahren wurden für die Untersuchungen von einem professionellen Hundetrainer konditioniert. Die Beschreibung der Hunde ist in Tab. 6 aufgelistet.

Tab. 6: Aufstellung der teilnehmenden Hunde

	Hund 1	Hund 2	Hund 3	Hund 4	Hund 5
Alter	2,5 Jahre	3 Jahre	2 Jahre	3 Jahre	4 Jahre
Geschlecht	weiblich	männlich	männlich	weiblich	weiblich
Kastration	ja	nein	ja	ja	nein
Rasse	Deutscher Schäferhund	Labrador Retriever	Australian Shepherd	Deutscher Schäferhund	Zwergpinscher-mischling

2.9 Konditionierung der Spürhunde

Die Spürhunde wurden in fünf Phasen auf das Erkennen von Lungenkrebs aus menschlichen Atemluftproben konditioniert (Tab. 7). Dazu wurde die sogenannte „Clicker“-Methode angewandt (Abb. 7): Den Hunden wird durch ein akustisches Signal, den „Click“, die Richtigkeit des momentanen Verhaltens aufgezeigt. Der „Click“ wird mittels eines Plastikgerätes erzeugt, das der Hundeführer oder eine andere Person beim Training (und später auch bei den Tests) zwischen Daumen und Zeigefinger einer Hand führt. Mit dem „Click“ ist im Training zunächst unmittelbar, in den späteren Tests dann mittelbar, die Belohnung durch eine Futtergabe verbunden. Das „Click“ fungiert so beim Training als ein positiver Verstärker, sobald ein Hund das vom Hundeführer gewünschte Verhalten spontan vorführt.

Abb. 7: Verwendung eines „Clickers“



Eine detaillierte Beschreibung der Konditionierung ist als Anhang (s. Kapitel 7.1) beigefügt.

Tab. 7: Trainingsphasen

Trainingsphase	Ort der Positivprobe	Verwendete Atemproben	Trainingsschritte	Mitwisser über Position der Positivprobe
1. Phase	In der Hand des Hundeführers	1 Probe von Patient mit Lungenkrebs	1. Schnuppern an Positivprobe 2. Click 3. Futter	Jeder der Anwesenden
2. Phase	In der Hand des Hundeführers	1 Probe von Patient mit Lungenkrebs	1. Schnuppern an Positivprobe 2. Kommando „Platz“ 3. Click 4. Futter	Jeder der Anwesenden
3. Phase	In einer der fünf Probenhalterungen	1 Probe von Patient mit Lungenkrebs, 4 Proben von gesunden Probanden	1. Schnuppern an Positivprobe 2. eigenständiges „Platz“ 3. Click 4. Futter	Jeder der Anwesenden
4. Phase	In einer der fünf Probenhalterungen	1 Probe von Patient mit Lungenkrebs, 4 Proben von gesunden Probanden	1. Schnuppern an Positivprobe 2. eigenständiges „Platz“ 3. Click 4. Futter	Nur der Studienleiter
5. Phase	In einer der fünf Probenhalterungen	1 Probe von Patient mit Lungenkrebs, 4 Proben von gesunden Probanden	1. Schnuppern an Positivprobe 2. eigenständiges „Platz“ 3. Click 4. Futter	Keiner

2.10 Testabläufe

Die Tests wurden unter Doppelblind-Bedingungen durchgeführt. Durch die „Clicker“-Methode war es möglich, den Hundeführer bezüglich der Position der Positivprobe zu verblinden und dennoch das gewünschte Verhalten des Hundes zu verstärken. Die Person, der die Position der Krebsprobe bekannt war, saß hinter einem Vorhang ohne den Hund beobachten zu können. Sie löste den „Click“ aus, wenn ihr die richtige Position vom Hundeführer zugerufen wurde. In diesem Versuchsaufbau konnten mögliche Einflussnahmen der anwesenden Personen auf die Anzeige der Hunde ausgeschlossen werden.

Es wurden drei Tests mit jeweils zehn bzw. fünf Durchgängen für jeden Hund durchgeführt (Tab. 8):

- I) Zehn Proben von Patienten mit gesichertem Lungenkarzinom gegen 40 Proben von Gesunden
- II) Zehn Proben von Patienten mit gesichertem Lungenkarzinom gegen 40 Proben von Patienten mit COPD
- III) Fünf Proben von Patienten mit gesichertem Lungenkarzinom gegen zehn Proben von Gesunden und zehn Proben von Patienten mit COPD

Bei allen drei Tests wurde jede Probe jedem Hund nur einmal vorgelegt. Alle Proben waren den Tieren unbekannt. In jedem Durchgang wurde eine Probe von Patienten mit gesichertem Lungenkarzinom zwischen vier Proben von Gesunden bzw. Patienten mit COPD aufgestellt. In Test III wurde eine Probe von Patienten mit gesichertem Lungenkarzinom gegen zwei Proben von Gesunden und zwei Proben von Patienten mit COPD in jedem Durchgang aufgestellt. Für die Auswertung wurden die Position jedes Probenröhrchens im Versuchsaufbau sowie die Anzeigen jedes einzelnen Hundes schriftlich dokumentiert.

Tab. 8: Anzahl verwendeter Probenröhrchen

	Proben		
	Gruppe „Krebs“	Gruppe „Gesund“	Gruppe „COPD“
Training	35	60	
Test I: „Krebs“ versus „Gesund“	10	40	
Test II: „Krebs“ versus „COPD“	10		40
Test III: „Krebs“ versus „gemischt“	5	10	10
Gesamt	60	110	50

Abb. 8: Versuchsaufbau



- A Probenröhrchen
- B Abgabe einer Atemprobe
- C Aufstellung der Atemproben für die Untersuchungen
- D Festlegung der Position der Positivprobe
- E Spürhund vor Beginn der Suche.
- F Anzeige der Positivprobe durch Spürhund

2.11 Statistische Auswertung²

Die bei der Datenerhebung gewonnenen quantitativen Merkmale wurden mittels des statistischen Software-Paketes R (version 2.11.0, www.r-project.org) und SPSS (Version 15 für Windows, SPSS Inc, Chicago, Ill) untersucht. P-Werte von weniger 0,05 wurden als statistisch signifikant angesehen. Der Fisher Exact Test wurde verwendet, um die Daten auf Homogenität zu untersuchen und die relative Häufigkeit von Merkmalen zwischen den Gruppen zu vergleichen. Kontinuierliche Gruppendaten wurden durch den Wilcoxon's Test mit Kontinuitätskorrektur verglichen. Der Kruskal-Wallis Test wurde gewählt, um drei Gruppen mit kontinuierlichen Daten zu analysieren. Paarweiser Vergleich wurde mit Hilfe des Wilcoxon rank sum Test oder χ^2 -Test durchgeführt. In beiden Fällen wurde die Holm's Methode verwendet, um errechnete p-Werte für mehrfache Tests anzupassen. Fleiss' Kappa wurde verwendet, um die inter-rater-Übereinstimmung zwischen den trainierten Hunden im Versuchsaufbau zu erfassen, wobei $\kappa = 1$ die vollständige Übereinstimmung der „Bewertenden“ und $\kappa = 0$ eine Übereinstimmung nur durch Zufall anzeigt. Die logistische Regression wurde verwendet, um Abhängigkeiten der Anzeige der Hunde vom Probenalter bzw. der Medikamenteneinnahme der Studienteilnehmer auszuschließen.

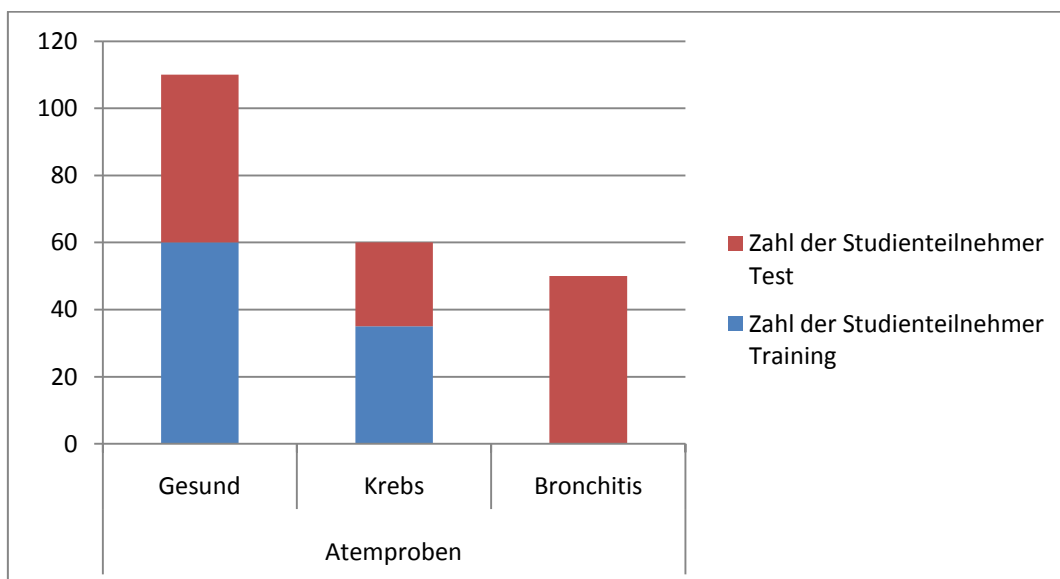
² Die statistische Auswertung wurde mit Privatdozent Dr. rer. nat. Jürgen Dippon, Institut für Stochastik und Anwendungen, Universität Stuttgart, erarbeitet und durchgeführt.

3. Ergebnisse

3.1 Zusammensetzungen der Untersuchungsgruppen

Für die Studie wurden Atemproben von insgesamt 220 Probanden gewonnen, davon 110 gesunde Studienteilnehmer, 60 Patienten mit histologisch gesichertem Lungenkrebs und 50 Patienten mit chronisch obstruktiver Bronchitis. Die Untersuchungsgruppen wurden gemäß der in Kapitel 2.4 beschriebenen Ein- und Ausschlusskriterien nach Fertigstellung der funktionellen Untersuchungen und des onkologischen Stagings eingeteilt (Abb. 9). In Erweiterung der ursprünglichen Ausschlusskriterien wurden auch Patienten eingeschlossen, die bereits eine Bronchoskopie oder computertomographisch gesteuerte Punktion erhalten hatten, um eine ausreichende Patientenzahl für die Studie zu gewinnen. In der durchgeführten statistischen Auswertung wurde deshalb eine Subgruppenanalyse durchgeführt, ob eine vorausgegangene Probenentnahme einen Einfluss auf die Anzeigewahrscheinlichkeit der Hunde hat.

Abb. 9: Verteilung der Atemproben in Trainings- und Testphase



Gesund=„Gesund“-Gruppe, Krebs=„Lungenkrebs“-Gruppe, Bronchitis=„COPD“-Gruppe

Für jede Untersuchungsgruppe wurde die Verteilung der Parameter Alter, Geschlecht, Body-Maß-Index, aktueller Zigarettenkonsum, Krebserkrankung in der Vorgeschichte, Vor- und Nebenerkrankungen und aktuelle Medikamenteneinnahme analysiert (Tab. 9).

Die Gruppen waren hinsichtlich der Geschlechtsverteilung deutlich verschieden. Im Gegensatz zur „Lungenkrebs“-Gruppe fanden sich bei den Gesunden überwiegend Frauen, während in der „COPD“-Gruppe die Verteilung fast ausgewogen war. Der Anteil der Raucher lag in der Gruppe der Gesunden signifikant niedriger als in der „Lungenkrebs“-Gruppe, am höchsten war er jedoch bei den Patienten mit COPD.

Entgegen dem Protokoll hatten in der Gruppe der Patienten mit COPD einzelne eine Krebserkrankung in der Vorgeschichte. In der Gruppe der Gesunden und der an Lungenkrebs Erkrankten wurde eine maligne Vorerkrankung ausgeschlossen. Eine Intervention (Bronchoskopie/ computertomographisch gesteuerte Punktion) vor Probenentnahme wurde nur bei einem Teil der Patienten mit Lungenkrebs durchgeführt. Für den Body-Maß-Index zeigten sich im Durchschnitt keine Unterschiede in den unterschiedlichen Gruppen.

Beim Probenalter zeigten sich jedoch signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen. Am höchsten war das Probenalter in der Lungenkrebs-Gruppe, etwas niedriger bei den gesunden Probanden und am niedrigsten bei den Patienten mit COPD.

Ein Vergleich zwischen Test- und Trainingsgruppen wurde durchgeführt, um auszuschließen, dass sich das Studienteilnehmerkollektiv der für das Hundetraining verwendeten Atemproben der „Lungenkrebs“- und „Gesund“-Gruppe von dem Kollektiv der für die Tests verwendeten Proben unterschied. Dabei zeigten sich aber keine relevanten Unterschiede (Tab.9).

Tab 9: Zusammensetzung der Gruppen in Trainings- und Testphase

	Gruppe „Gesund“			p Trai- ning vs Test	Gruppe „Krebs“			p Trai- ning vs Test	Gruppe	p Test alle Grup- pen
	alle	Training	Test		„COPD“	Test				
n	110	60	50		60	35	25		50	
Alter (J), MW±SD	46.2±14.0	45.7±12.5	46.8±15.8	n.s.	63.6±10.3	65.3±9.8	62.6±11.1	n.s.	66.7±6.6	<0.001
Geschlecht (m:w) %	26:74	28:72	24:76	n.s.	78:22	71:29	88:12	n.s.	56:44	<0.001
BMI (kg/m²), MW±SD	25.3±5.3	25.2±5.4	25.4±5.1	n.s.	25.4±4.4	24.9±4.7	26.1±4.0	n.s.	26.5±5.2	n.s.
Raucher (n/%)	14 / 12.7	9 / 15	5 / 10.0	n.s.	13 / 21.7	7 / 20.0	6 / 24.0	n.s.	13 / 26.0	n.s.
Krebs in Anamnese (n/%)	0 / 0	0 / 0	0 / 0	n.s.	0 / 0	0 / 0	0 / 0	n.s.	3 / 6	n.s.
Thoraxoperation in Anamnese (n/%)	0 / 0	0 / 0	0 / 0	n.s.	0 / 0	0 / 0	0 / 0	n.s.	1 / 2	n.s.
Vorherige Intervention (n/%)	0 / 0	0 / 0	0 / 0	n.s.	34 / 57	18 / 51	16 / 64	n.s.	0 / 0	n.s.
Probenalter (d), MW±SD	23.6±19.0	22.3±21.1	25.2±16.1	n.s.	38.5±22.4	39.4±22.5	37.3±22.8	n.s.	8.1±3.8	<0.001

BMI=Body-Mass-Index, d=Tage, J=Jahre, m=männlich, MW=Mittelwert, n=Zahl der Personen, p=p-Wert, SD=Standardabweichung, vs=versus, w=weiblich

3.2 Lungenfunktionen

Im Vergleich von Studienteilnehmern in Trainings- und Testphase zeigten sich innerhalb der Gruppen der gesunden Studienteilnehmer in der statistischen Analyse leicht erhöhte prozentuale Werte für die Vitalkapazität und für die Sekundenkapazität in der Trainingsgruppe. Der Vergleich der zugehörigen absoluten Werte fiel jedoch unauffällig aus. Bei den Patienten mit Lungenkrebs zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Lungenfunktionsparametern von Trainings- und Testkollektiv.

Vergleicht man jedoch die Gruppen der gesunden Probanden, der Patienten mit Lungenkrebs und der Patienten mit COPD untereinander, so unterschieden sich alle erhobenen Parameter der Lungenfunktion. Die Werte der „Gesund“-Gruppe stellten sich im Rahmen der Normwerte dar. Die „Lungenkrebs“-Gruppe wies im Mittel eine leichte Obstruktion und leichte Restriktion auf. Die „COPD“-Gruppe zeigte entsprechend der Definition der Erkrankung auch in den Durchschnittswerten eine deutliche Obstruktion mit deutlicher Überblähung der Lunge. Diese Unterschiede sind signifikant (Tab. 10).

Tab. 10: Verteilung der Lungenfunktionsparameter in den Gruppen der Trainings- und Testphase

	Gruppe „Gesund“			p Trai- ning vs Test	Gruppe „Krebs“			p Trai- ning vs Test	Gruppe „COPD“	p Test alle Grup- pen
	alle	Training	Test		alle	Training	Test		Test	
n	110	60	50		60	35	25		50	
VC (l), MW±SD	4.0±1.0	4.1±1.0	3.8±0.8	n.s.	3.5±1.1	2.9±1.1	3.5±1.1	n.s.	2.8±0.8	<0.001
VC (%), MW±SD	107±14	111±12	103±16	< 0.01	83±21	79±22	83±21	n.s.	79±20	<0.001
FEV1 (l), MW±SD	3.3±0.8	3.4±0.8	3.2±0.8	n.s.	2.4±0.8	2.1±1.0	2.4±0.8	n.s.	1.6±0.6	<0.001
FEV1 (%), MW±SD	109±15	112±13	105±17	<0.05	74±25	73±25	76±25	n.s.	61±19	<0.001
FEV1%VC, MW±SD	81.2±5.9	80.6±5.9	82.0±5.9	n.s.	65±13	65±13	66±12	n.s.	59±11	<0.001
TLC (l), MW±SD	6.0±1.3	5.9±1.3	6.0±1.3	n.s.	5.8±1.3	5.9±1.3	5.8±1.3	n.s.	7.1±1.4	<0.001
TLC (%), MW±SD	105±18	104±13	107±22	n.s.	92±20	97±21	85±16	n.s.	120±20	<0.001
RV (l), MW±SD	1.8±1.1	1.6±0.8	2.1±1.3	n.s.	2.5±1.2	2.7±1.4	2.1±0.7	n.s.	4.4±1.2	<0.001
RV (%), MW±SD	97±52	87±30	109±69	n.s.	106±49	118±58	88±25	n.s.	187±56	<0.001

FEV1=Sekundenkapazität, FEV1%VC=relative Sekundenkapazität, MW=Mittelwert, n=Zahl der Personen, n.s.= nicht signifikant, p=p-Wert, RV=Reservevolumen, SD=Standardabweichung, TLC=Totale Lungenkapazität, VC=Vitalkapazität, vs=versus

3.3 Probenalter

Das Alter der Atemproben war zwischen Trainings- und Testkollektiv sowohl bei den gesunden Probanden wie auch bei den Patienten mit Lungenkarzinom innerhalb der Gruppe nicht signifikant verschieden.

Das Alter der Proben war im Vergleich der Gruppen untereinander signifikant verschieden: Die Proben in der Lungenkrebs-Gruppe waren in der Testphase am ältesten. Dies kam dadurch zustande, dass die Atemproben oft vor Diagnosesicherung der Lungenkrebserkrankung entnommen wurden. Erst nachdem die Verdachtsdiagnose histologisch gesichert werden konnte, wurden die Atemproben für die Studie verwendet. In der Gesund-Gruppe waren die Atemproben nochmals deutlich älter im Vergleich zur COPD-Gruppe (Tab. 11)

Tab. 11: Alter der Probenröhrchen in den Testgruppen

	Gruppe „Gesund“	Gruppe „Krebs“	Gruppe „COPD“	p-Wert
Probenalter (d), MW±SD	25.2±16.1	37.3±22.8	8.1±3.8	<0.001

d=Tage, MW=Mittelwert, SD=Standardabweichung

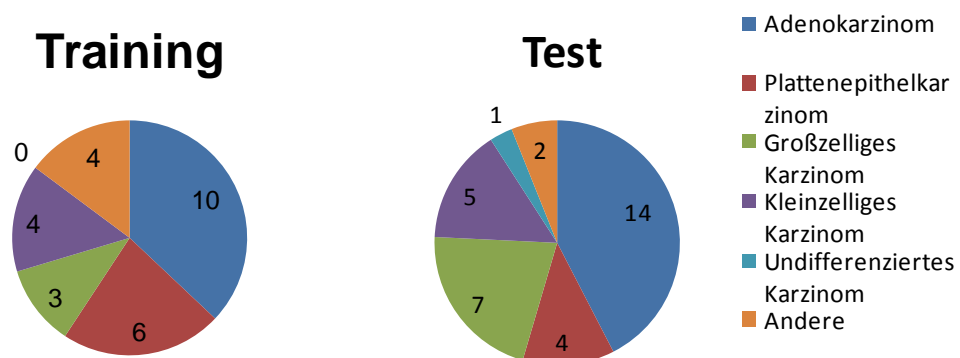
3.4 Probengewinnung von Patienten mit Lungenkrebserkrankung

Da die Atemproben, wenn möglich, schon vor der histologischen Sicherung bei radiologischem Verdacht auf Lungenkrebs genommen wurden, wurden insgesamt 81 Atemproben benötigt, um nach Sicherung der Diagnose Lungenkrebs, die erforderlichen 60 Proben von Krebspatienten zu erhalten. In dieser Auswertung wurden die Atemproben derjenigen Studienteilnehmer berücksichtigt, die tatsächlich für das Hundetraining bzw. die Tests eingesetzt wurden.

3.5 Krebserkrankungen

Die histologische Subtypisierung der Lungenkarzinome der Trainings- und Testphase war ähnlich. Bei der Mehrheit der Patienten lag in beiden Phasen ein Adenokarzinom vor (Abb. 10).

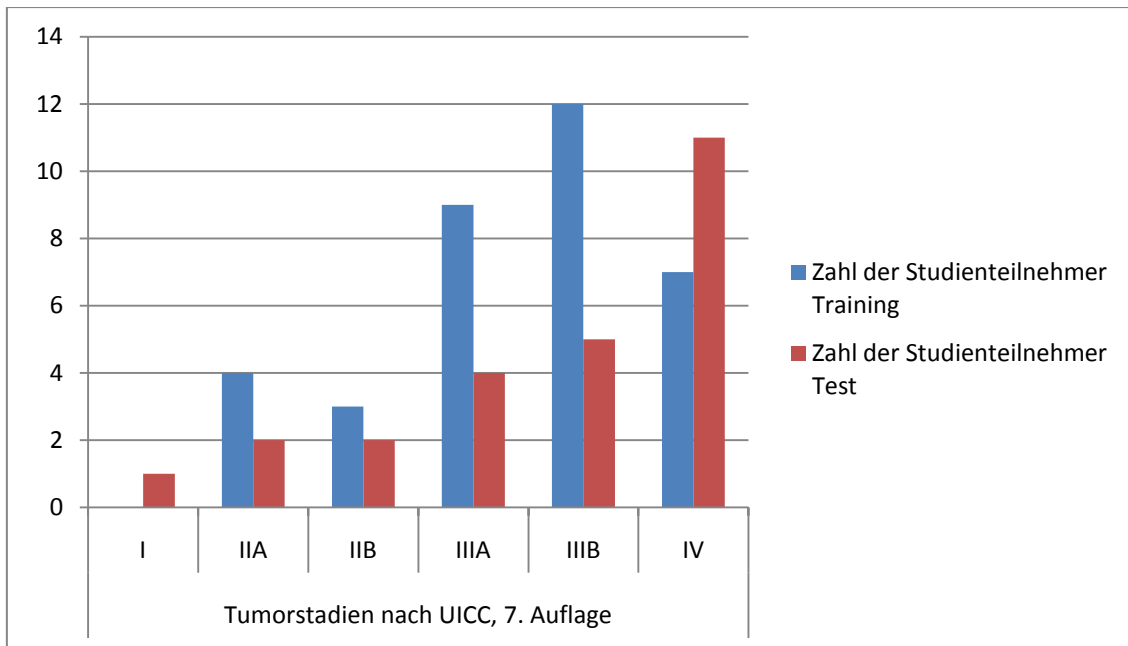
Abb. 10: Histologische Subtypisierung des Lungenkarzinoms bei Patienten der Trainings- und Testphase



In der Subgruppe „Andere“ wurden seltene histologische Typen wie das sarkomatoide und das mukoepidermoide Karzinom erfasst.

Die Mehrheit der verwendeten Atemproben waren von Patienten mit den fortgeschrittenen Tumorstadien UICC IIIB und IV (54% in der Trainings- und 64% in der Testgruppe). In der Testgruppe waren die fortgeschrittenen Stadien vergleichsweise noch etwas höher (Abb. 11).

Abb. 11: Verteilung der Tumorstadien in Trainings- und Testphase



UICC= union internationale contre le cancer

3.6 Hundetraining

Die Trainingsphase dauerte elf Wochen. Das Training wurde beendet, nachdem die Hunde die Krebsproben unter Simulation der Testbedingungen mit einer Trefferquote von 90% erkannten. Insgesamt beendeten vier von fünf Hunden das Training erfolgreich. Hund 5 (Tab. 5) fiel im Laufe des Trainings nach anfänglich guter Leistung wegen Scheinträchtigkeit und dadurch mangelnde Konzentration aus.

3.7 Tests

Alle Tests wurden protokollgerecht innerhalb von zwei Tagen durchgeführt (Abschnitt 2.10). Die Hunde benötigten für jeden Durchgang weniger als 15 Sekunden.

Die Anzeigen der vier Hunde für die Proben sind in Tab. 12 aufgeführt.

Tab. 12: Anzeige der Hunde in den einzelnen Durchgängen der Tests

		Hund 1	Hund 2	Hund 3	Hund 4	Summe	%
Test 1	Anzeige richtig	6	4	4	6	20	50
	Anzeige falsch	4	6	6	4	20	50
Test 2	Anzeige richtig	9	8	7	8	32	80
	Anzeige falsch	1	2	3	2	8	20
Test 3	Anzeige richtig	5	5	4	5	19	95
	Anzeige falsch	0	0	1	0	1	5

Test 1: In 40 Durchgängen (vier Hunde mit je zehn Durchgängen) wurde die Probe eines Patienten mit Lungenkrebs 20mal nicht erkannt, 20mal zeigte ein Hund falsch die Probe eines Gesunden an (Tab. 13).

Tab. 13: Ergebnisse Test 1

	Krebsprobe	Gesundprobe	Summe
Richtig angezeigt	20	140	160
Falsch angezeigt	20	20	40
Summe	40	160	200

Test 2: In 40 Durchgängen (vier Hunde mit je zehn Durchgängen) wurde die Probe eines Patienten mit Lungenkrebs achtmal nicht erkannt, achtmal zeigte ein Hund falsch die Probe eines Patienten mit COPD an (Tab. 14)

Tab. 14: Ergebnisse Test 2

	Krebsprobe	COPD-Probe	Summe
Richtig angezeigt	32	152	184
Falsch angezeigt	8	8	16
Summe	40	160	200

Test 3: In 20 Durchgängen (vier Hunde mit je fünf Durchgängen) wurde die Probe eines Patienten mit Lungenkrebs einmal nicht erkannt, einmal zeigte ein Hund falsch die Probe eines Patienten mit COPD an (Tab. 15)

Tab. 15: Ergebnisse Test 3

	Krebsprobe	Gesund-/ COPD- Probe	Summe
Richtig angezeigt	19	79	98
Falsch angezeigt	1	1	2
Summe	20	80	100

Aus diesen Anzeigen ergeben sich für die Sensitivität, Spezifität, positiv prädiktiver Wert (PPV) und negativ prädiktiver Wert (NPV) folgende Werte (Tab. 16):

Tab. 16: Anzeigen der Hunde: Sensitivität, Spezifität, PPV und NPV

	Test I Krebs- versus Gesundproben	Test II Krebs- versus COPD-Proben	Test III Krebs- versus COPD- & Gesundproben
Sensitivität	50%	80%	95%
Spezifität	88%	95%	95%
PPV	50%	80%	95%
NPV	88%	95%	95%

PPV=positive predictive value, NPV=negative predictive value

Die Inter Rater Übereinstimmung der vier Hunde war moderat mit $\kappa = 0.436$.

Vor dem Hintergrund der uneinheitlichen Anzeige der Spürhunde wurde ausgewertet, inwiefern einer Berücksichtigung der Anzeigeergebnisse aller vier Spürhunde für eine Krebsprobe die Wahrscheinlichkeit für ein richtiges Ergebnis verändert. Hierzu wurde die Anzeige aller vier Spürhunde zu einer

Gemeinschaftsanzeige zusammengefasst. Die Gemeinschaftsanzeige gibt die Richtigkeit der übereinstimmenden Anzeige von drei bzw. vier Spürhunden an (Tab. 17).

Tab. 17: Ergebnis bei Wertung der Proben die von mindestens drei Hunden angezeigt wurden

	Prozent/ Konfidenzintervall
Sensitivität	72% CI 51 – 88%
Spezifität	90% CI 78 – 97%
PPV	87% CI 74 – 94%
NPV	78% CI 56 – 93%

CI=Konfidenzintervall, PPV=positive predictive value, NPV=negative predictive value

Die deskriptive Statistik hat für das Alter der verwendeten Probenröhrchen gezeigt, dass dieses in drei Testgruppen signifikante Unterschiede aufwies. Das unterschiedliche Alter der Probenröhrchen kann theoretisch zu einer Verfälschung der Untersuchungsergebnisse führen, da zum Beispiel Fäulnisprozesse oder bakterielle Besiedlungen in den länger gelagerten Probenröhrchen zunehmen. Deshalb wurde in einer Subgruppenanalyse die Anzeigerichtigkeit für Atemproben, die älter bzw. jünger als 40 Tage waren, geprüft. Hierbei ist kein signifikanter Einfluss des Probenalters auf das Testergebnis zu erkennen (Tab. 18).

Tab. 18: Ergebnis aufgeteilt in Probenalter kleiner bzw. größer 40 Tage

	< 40 Tage	> 40 Tage
	n = 102	n = 21
Sensitivität	62% CI 32 – 86%	83% CI 52 – 98%
Spezifität	90% CI 76 – 97%	89% CI 52 – 100%
PPV	88% CI 73 – 96%	80% CI 44 – 97%
NPV	67% CI 35 – 90%	91% CI 59 – 100%

CI=Konfidenzintervall, n=Anzahl der Proben

3.8 Nebenerkrankungen

Um Auswirkungen von vorliegenden Begleiterkrankungen auf die Riechergebnisse der Hunde zu untersuchen, wurden bei allen Studienteilnehmern die Begleiterkrankungen erfasst. Insgesamt wurden in der Studienpopulation 22 Begleiterkrankungen dokumentiert. Die statistische Auswertung zeigte eine inhomogene Verteilung von vier Begleiterkrankungen über die Untersuchungsgruppen (Tab. 19). In der logistischen Regressionsanalyse führt diese inhomogene Verteilung jedoch zu keiner Veränderung der Hundeanzeigen. Nebenerkrankungen beeinflussen die Hunde also nicht.

Tab. 19: Nebenerkrankungen mit inhomogener Verteilung auf die Gruppen

	Gruppe „Gesund“			p Trai- ning vs Test	Gruppe „Krebs“			p Trai- ning vs Test	Gruppe „COPD“ Test	p Test alle Grup- pen
	alle	Training	Test		Alle	Training	Test			
n	110	60	50		60	35	25		50	
Arterieller Hypertonus (n / %)	6 / 5.5	3 / 5.0	3 / 6.0	n.s.	31 / 51.7	20 / 57.1	11 / 44.0	n.s.	20 / 40.0	<0.001
Hypothyreose (n / %)	17 / 15.5	4 / 6.7	13 / 26.0	<0.01	4 / 6.7	4 / 11.4	0 / 0	n.s.	4 / 8.0	<0.01
Herzrhythmusstörungen (n / %)	0 / 0	0 / 0	0 / 0	n.s.	2 / 3.3	2 / 5.7	0 / 0	n.s.	7 / 14.0	<0.01
Diabetes mellitus (n / %)	1 / 0.9	0 / 0	1 / 2.0	n.s.	14 / 23.3	9 / 25.7	5 / 20.0	n.s.	1 / 2.0	<0.01

n=Anzahl der Personen, p=p-Wert, vs=versus, n.s.=nicht signifikant

3.9 Medikamente als Störfaktoren

Um einen möglichen Einfluss der eingenommenen Medikamente bzw. ihrer Metabolite auf das Testergebnis zu untersuchen, wurden diese ebenfalls bei allen Probanden erfasst. Insgesamt waren dies 112 unterschiedliche Wirkstoffe. Eine statistisch inhomogene Verteilung auf die Trainings- und Testgruppen zeigte sich dabei bei 20 Wirkstoffen (Tab. 20).

In der daraufhin durchgeführten logistischen Regressionsanalyse konnten sieben mögliche Störfaktoren identifiziert werden (s. Tab. 21).

Das Signifikanzniveau wurde für die Auswertung auf 5% festgelegt. Bei einer großen Anzahl von Tests (bei relativ kleinen Fallzahlen) ist deshalb zu erwarten, dass 5% der untersuchten Parameter fälschlicherweise als statistisch auffällig angezeigt werden. In vorliegender Auswertung sind von 112 untersuchten Medikamenten sieben in der logistischen Regressionsanalyse auffällig. Jedoch nur Metoprolol und Tiotropiumbromid liegen mit einem $p < 0.01$ deutlich unter dem angesetzten Signifikanzniveau von $p = 0.05$. Deshalb bleiben nur Metoprolol und Tiotropiumbromid in der Auswertung als mögliche Confounder.

Tab. 20: Medikamente mit inhomogener Verteilung auf die Gruppen

	Gruppe „Gesund“			p Trai- ning vs Test	Gruppe „Krebs“			p Trai- ning vs Test	Gruppe „COPD“		p Test alle Grup- pen
	alle	Training	Test		alle	Training	Test		Test		
n	110	60	50		60	35	25		50		
Thyroxin (n / %)	17 / 15.5	4 / 6.7	13 / 26.0	<0.01	5 / 8.3	5 / 14.3	0 / 0	n.s.	5 / 10	<0.01	
Ramipril (n / %)	1 / 0.9	1 / 1.7	0 / 0	n.s.	15 / 25.0	12 / 34.3	3 / 12.0	n.s.	5 / 10.0	<0.05	
Telmisartan (n / %)	0 / 0	0 / 0	0 / 0	n.s.	2 / 3.3	0 / 0	2 / 8.0	n.s.	0 / 0	<0.05	
Tiotropiumbromid (n / %)	0 / 0	0 / 0	0 / 0	n.s.	4 / 6.7	1 / 2.9	3 / 12.0	n.s.	29 / 58.0	<0.001	
Ipratropiumbromid (n / %)	0 / 0	0 / 0	0 / 0	n.s.	8 / 13.3	8 / 22.9	0 / 0	<0.05	11 / 22.0	<0.001	
Fenoterol (n / %)	0 / 0	0 / 0	0 / 0	n.s.	2 / 3.3	2 / 5.7	0 / 0	n.s.	14 / 28.0	<0.001	
Fluticason (n / %)	1 / 0.9	0 / 0	1 / 2.0	n.s.	1 / 1.7	0 / 0	1 / 4.0	n.s.	16 / 32.0	<0.001	
Salmeterol (n / %)	1 / 0.9	0 / 0	1 / 2.0	n.s.	4 / 6.7	3 / 8.6	1 / 4.0	n.s.	16 / 32.0	<0.001	
Budenosid (n / %)	0 / 0	0 / 0	0 / 0	n.s.	3 / 5.0	3 / 8.6	0 / 0	n.s.	8 / 16.0	<0.001	
Formoterol (n / %)	0 / 0	0 / 0	0 / 0	n.s.	5 / 8.3	3 / 8.6	2 / 8.0	n.s.	17 / 34.0	<0.001	
Beclomethason (n / %)	0 / 0	0 / 0	0 / 0	n.s.	9 / 15.0	9 / 25.7	0 / 0	<0.007	4 / 8.0	n.s.	
Indicaterol (n / %)	0 / 0	0 / 0	0 / 0	n.s.	0 / 0	0 / 0	0 / 0	n.s.	5 / 10.0	<0.05	
Salbutamol (n / %)	0 / 0	0 / 0	0 / 0	n.s.	0 / 0	0 / 0	0 / 0	n.s.	10 / 20	<0.001	
Theophyllin (n / %)	0 / 0	0 / 0	0 / 0	n.s.	2 / 3.3	2 / 5.7	0 / 0	n.s.	7 / 14.0	<0.01	
Prednisolon (n / %)	0 / 0	0 / 0	0 / 0	n.s.	4 / 6.7	2 / 5.7	2 / 8.0	n.s.	8 / 16.0	<0.01	
Pantoprazol (n / %)	0 / 0	0 / 0	0 / 0	n.s.	11 / 18.3	8 / 22.9	3 / 12.0	n.s.	4 / 8.0	<0.05	
ASS (n / %)	2 / 1.8	1 / 1.7	1 / 2.0	n.s.	8 / 13.3	4 / 11.4	4 / 16.0	n.s.	9 / 18.0	<0.05	
Dihydrocodein (n / %)	0 / 0	0 / 0	0 / 0	n.s.	2 / 3.3	0 / 0	2 / 8.0	n.s.	0 / 0	<0.05	
Codein (n / %)	0 / 0	0 / 0	0 / 0	n.s.	5 / 8.3	2 / 8.0	2 / 8.0	n.s.	0 / 0	<0.05	
Enoxaparin (n / %)	0 / 0	0 / 0	0 / 0	n.s.	3 / 5.0	0 / 0	3 / 12.0	n.s.	0 / 0	<0.01	
Metoclopramid (n / %)	0 / 0	0 / 0	0 / 0	n.s.	3 / 5.0	0 / 0	3 / 12.0	n.s.	0 / 0	<0.01	

n=Anzahl der Personen, p=p-Wert, vs=versus, n.s.=nicht signifikant

Tab. 21: Medikamente als mögliche Störfaktoren in der logistischen Regressionsanalyse

Medikamente	p-Wert	25% Quartil	Median	75% Quartil
Metoprolol	<0.01	-0.02652	-0.02652	0.73844
Tiotropiumbromid	<0.01	-0.02652	-0.02652	0.73844
Formoterol	<0.05	1.054e-08	1.054e-08	7.585e-01
Simvastatin	<0.05	-0.20204	0.02856	0.78037
Glibenclamid	<0.05	-0.0001315	0.238404	0.7767475
Dihydrocodein	<0.05	1.054e-08	1.054e-08	7.585e-01
Metoclopramid	<0.05	-0.05363	-0.05363	0.71809

3.10 Zeitpunkt der Probenentnahme (vor oder nach histologischer Sicherung)

Der Einschluss von Patienten, bei denen bereits zuvor ein Lungenkarzinom durch Bronchoskopie oder CT-gesteuerte Punktion gesichert wurde, hatte keinen Einfluss auf die Anzeige der Hunde (p-Wert 0.6729, CI 0.1618 – 12.2953, odds ratio 1.4751)

4. Diskussion

4.1 Volatile organische Verbindungen zur Diagnose des Lungenkrebs

Lungenkrebs ist weltweit die führende Todesursache bei Patienten mit Krebserkrankungen, bei Männern wie bei Frauen. Bis 2030 wird das Lungenkarzinom zur jeweils dritten bzw. fünften führenden Todesursache in hohen und mittleren Einkommensländern ansteigen [27, 30, 35]. Die Prognose ist abhängig vom Tumorstadium, die Therapie mit kurativer Intention ist nur in den niedrigen Tumorstadien erfolgversprechend. Eine einfache, wenig invasive und kostengünstige Screening-Methode für Risikopatienten existiert bisher nicht für diese Erkrankung.

Theoretisch stellt die Atemluft von Patienten mit Lungenkrebs ein vielversprechendes Untersuchungsmaterial für die Lungenkrebsdiagnostik dar. Denn über die Atemluft gibt der Körper zahlreiche organische Verbindungen an die Umwelt ab. Die Analyse von Ausatemluft könnte daher eine sensible und gleichzeitig nicht invasive Methode sein, um Krebs zu diagnostizieren oder als Früherkennungsmethode dienen.

Seit ihrer ersten Beschreibung 1971 durch Pauling wurden über 3000 verschiedene volatile organische Verbindungen in der ausgeatmeten Luft von Menschen nachgewiesen, die meisten von ihnen in picomolaren Konzentrationen [41, 42]. Es wurde die Hypothese aufgestellt, dass möglicherweise Tumoren spezifische volatile organische Verbindungen abgeben. Wegen der Lage des betroffenen Organs, der Prävalenz in industriellen Gesellschaften und der schlechten Prognose scheint dies für Lungenkrebs besonders interessant zu sein. Proben der Ausatemluft sind leicht zu gewinnen. Auch Menschen mit eingeschränkter Lungenfunktion können solche Proben ohne Risiko abgeben. Das Verfahren ist jederzeit wiederholbar und nicht invasiv.

Das Vorliegen spezifischer von Tumoren abgegebener volatiler organischer Verbindungen bleibt spekulativ [52]. So konnte gezeigt werden, dass Patienten mit Lungenkrebs auch mit Hilfe einer elektronischen Nase von Gesunden

unterschieden werden können [16, 17, 33]. Das Tumorstadium hatte dabei keinen Einfluss auf das Ergebnis, was nahelegt, dass das Ausatemprofil die Möglichkeit bietet einen Screening-Test zu entwickeln, sollten einmal spezifische Marker identifiziert werden [27].

Die chronisch obstruktive Bronchitis (COPD) geht bei Rauchern einem Lungenkarzinom oft voraus bzw. begleitet es [63]. Die COPD ist durch typische Lungenfunktionsveränderungen, chronisch systemische und lokale Entzündung der Atemwege sowie strukturelle Veränderungen des Lungenparenchyms charakterisiert. Es ist davon auszugehen, dass diese strukturellen Lungenveränderungen sich in dem Spektrum an ausgeatmeten Biomarkern ausdrückt. Tatsächlich ist die Menge ausgeatmeter Biomarker bei Patienten mit COPD verglichen mit gesunden Kontrollpersonen verändert [14, 17]. Da Lungenkrebs häufiger bei Patienten mit COPD als bei Personen ohne COPD entsteht, ist die Unterscheidung zwischen Lungenkrebs und COPD im ausgeatmeten Biomarker-Profil wichtig [27].

4.2 Spürhunde zur Krebserkennung

Die Leistungsfähigkeit des olfaktorischen Systems von Hunden wird beim Einsatz von Spürhunden zu militärischen und zivilen Zwecken genutzt. Hunde können z.B. den Stoff N-Acetyl-Acetat (Essigsäureanhydrid) bis zu einer Verdünnung von 1,9 Teilen pro einer Billion in der Luft erkennen [56]. Erstes Interesse in medizinischem Zusammenhang weckte ein Fallbericht von Williams, der von einer Frau berichtete, die durch das außergewöhnliche Interesse ihres Hundes an einem Fleck auf ihrer Haut dazu veranlasst wurde, die Hautläsion untersuchen zu lassen. In der histologischen Untersuchung des entfernten Gewebes zeigte sich ein malignes Melanom [60]. Ein zweiter Bericht von Church dokumentierte wie ein Hundebesitzer durch sein Haustier auf ein Basalzellkarzinom der Haut aufmerksam gemacht wurde [11]. Vor dem Hintergrund dieser Einzelberichte wurden Spürhunde in präklinischen Studien zur Krebserkennung eingesetzt [21, 37]. Aus Urinproben können Hunde ebenfalls maligne Erkrankungen erkennen [61]. Sensitivität und Spezifität

entsprechen aber nicht der von Studien mit Ausatemluft [36]. Ausatemluft scheint als Substrat besser geeignet zu sein als Urin. McCulloch berichtete 2006 über Sensitivität und Spezifität von 99% beim Einsatz von Spürhunden zur Erkennung von Lungenkrebs aus Atemproben [36]. Mögliche olfaktorische Störfaktoren, wie begleitende Krankheiten, Therapien, Diät und Rauchen wurden jedoch nicht erfasst. Somit sind die von McCulloch veröffentlichten sehr guten Ergebnisse kritisch zu hinterfragen.

4.3 Hundetraining

Im Gegensatz zum Training von Hunden auf Drogen oder Sprengstoff sind die Geruchsstoffe bei der Krebserkrankung nicht bekannt. Die Hunde werden sozusagen auf ein Phantom trainiert. Wie auch bei der elektronischen Nase oder bei der Analyse der volatilen organischen Verbindungen weiß man zudem nicht, ob es sich bei dem Geruchsträger um einen oder mehrere Stoffe handelt. Es ist auch unklar, ob die Geruchsträger vom Tumor selbst abgegeben werden oder ob es sich um Stoffwechselprodukte handelt, die durch die Wechselwirkung zwischen Tumor und Organismus entstehen [27]. Um dies zu überprüfen müsste untersucht werden, ob nach einer Resektion des Tumors die Krebserkrankung in der Atemluft noch von Hunden erkannt werden kann. Horvath berichtete über das Training eines Hundes auf die Unterscheidung von resezierten Ovarien mit und ohne Ovarialkarzinom [25]. Scheinbar ist das Karzinom selbst auch durch seinen Geruch für Hunde zu erkennen. Auch bei malignen Hauterkrankungen scheint der Geruchsträger im Tumorgewebe selbst oder zumindest unmittelbar daneben zu entstehen, da die Hunde direkt auf den Tumor reagieren [11, 43, 60]. Horvath berichtet, dass Gewebeproben von Ovarialkarzinomen zur Konditionierung eines Hundes eingesetzt wurden. Das Tier habe danach am Blutserum von Patientinnen das Vorliegen der Erkrankung angezeigt [25].

Um sicher zu gehen, dass die Hunde wirklich Krebs erkennen und nicht einen unspezifischen Begleiteffekt, benötigt man im Training möglichst viele unterschiedliche Atemproben, die nur das Merkmal „Krebs“ gemeinsam haben.

Bei der Ausarbeitung der hier vorliegenden Studie zeigte sich, dass die mehrfache Verwendung derselben Atemprobe von Patienten mit Lungenkrebs und gesunden Probanden beim Hundetraining dazu führt, dass die Hunde in neuen Proben den Krebs nicht erkannten. Möglicherweise erkennen sie nach wiederholtem Training mit denselben Proben die jeweiligen Proben und nicht mehr nur die krebsspezifischen Komponenten wieder. Durch häufigen Probenwechsel können sie dann aber die Marker, auf die konditioniert werden soll, als einziges beständiges Merkmal erkennen.

Vermutlich konnten die Hunde während der drei Testläufe der vorliegenden Untersuchung ihre Leistungen noch steigern, da sie stets mit neuen, für sie unbekanntem Proben konfrontiert wurden. Die Wiedererkennung einer einzelnen Probe war in dieser Situation nicht mehr möglich.

Das Hundetraining in der hier vorliegenden Studie dauerte elf Wochen. Es resultierte in einem Fleiss-Kappa von 44%, der somit nur eine mäßige Übereinstimmung zwischen den Hunden anzeigt. Dies könnte wahrscheinlich durch ein längeres Training verbessert werden. Verglichen mit McCulloch, der seine Tiere nur zwei bis drei Wochen trainierte, benötigte das Training in dieser Untersuchung deutlich längere Zeit. Dies könnte daran liegen, dass die Hunde, die von McCulloch trainiert wurden, wesentlich jünger waren. Es wird vermutet, dass jüngere Tiere eine höhere Lernfähigkeit haben [8].

Im Hundetraining dieser Untersuchung wurde die so genannte „Clicker“-Methode eingesetzt. Das Belohnungssignal ist damit gleichförmig und es wird verhindert, dass der Hundeführer unbewusst oder bewusst einen Einfluss auf das Verhalten des Tieres ausübt. Ein weiterer Vorteil ist, dass das „Clicker“-Gerät auch von einer anderen Person als den Hundeführer bedient werden kann.

Das in der hier vorliegenden Studie durchgeführte Training reicht noch nicht aus, um die Hunde zur Früherkennung von Lungenkrebs in der klinischen Praxis einzusetzen. Hierzu müssten sie so konditioniert werden, dass sie zeitweise auch ohne Belohnung arbeiten. Insbesondere müssten die Hunde für einen praxistauglichen Einsatz so konditioniert werden, dass sie nicht in jedem Untersuchungsgang eine Krebsprobe erwarten können. Wie beim Training von

Spürhunden in anderen Bereichen (wie zum Beispiel bei der Gepäckkontrolle am Flughafen) müssten Trainingsrunden mit Belohnung „eingestreut“ werden, um die Hunde weiterhin zu motivieren.

In der vorliegenden Studie waren speziell trainierte Spürhunde in der Lage aus einer Atemprobe Lungenkrebs mit einer Sensitivität von 72% und einer Spezifität von 90% zu identifizieren. Durch die hier präsentierte präzise Charakterisierung von 125 Atemproben, die durch vier Spürhunde getestet wurden, bestätigt sich die Hypothese eines Markers bzw. eines Geruchsmusters, der eng mit Lungenkrebs assoziiert und unabhängig von einer COPD, von Tabakrauch, Lebensmittelgerüchen und möglicherweise Medikamentenmetaboliten ist. Ob die Probenentnahme vor oder nach der histologischen Sicherung des Lungenkrebses erfolgte, beeinflusste die Erkennung erwiesenermaßen nicht. Zusätzlich hatte keinen Einfluss, ob es sich bei der Kontrollgruppe um gesunde Personen oder Patienten mit chronisch obstruktiver Bronchitis handelt.

In der vorliegenden Auswertung wurden überwiegend Atemproben von Patienten mit fortgeschrittenen Tumorerkrankungen, Stadium IIIB und IV verwendet. Allerdings stammten 36% der für die Tests verwendeten Atemproben von kurativ behandelbaren Lungentumoren Stadium I-IIIa. In der statistischen Auswertung nach Tumorstadien lässt sich aufgrund der niedrigen Fallzahlen in den einzelnen Tumorstadien keine Korrelation zwischen Tumorstadium und Anzeigeverhalten der Hunde darstellen. Aber statistisch ist die Fehlerquote der Spürhunde bei den Frühstadien nicht höher als bei den fortgeschrittenen Tumorstadien. Deshalb weisen die hier vorliegenden Untersuchungsergebnisse darauf hin, dass Spürhunde auch Frühstadien des Lungenkarzinoms identifizieren können.

Das Alter der Atemprobe hatte in dieser Studie keinen erkennbaren Einfluss auf das Erkennen eines Lungenkarzinoms durch die Spürhunde.

Der Einsatz von Spürhunden im Krankenhaus ist aus ärztlicher Sicht schwer vorstellbar. Durch den Einsatz von Probenröhrchen war dies jedoch nicht erforderlich. Die Spürhunde konnten an einem anderen Ort trainiert und getestet werden.

4.4 Störfaktoren

In dieser Arbeit wurden mögliche Störfaktoren für die Geruchsidentifikation von Lungenkrebs aus Atemproben ausgeschlossen. Die Gruppe der gesunden Probanden war eher weiblich und jünger. Die multivariate Analyse schloss jedoch eine Verbindung zwischen diesen Charakteristika und der Anzeige der Hunde aus.

Bei der Medikamenteneinnahme ergaben sich bei 112 erfassten Wirkstoffen nur Metoprolol und Tiotropiumbromid als mögliche Störfaktoren. Die Einnahme von Metoprolol war gleichmäßig verteilt auf die COPD- und die Lungenkrebsgruppe, kam aber nicht bei gesunden Probanden vor. Metoprolol beeinflusst also nicht die Unterscheidung zwischen Patienten mit Lungenkrebs und gesunden Probanden. Tiotropiumbromid wurde fast ausschließlich von Patienten mit COPD eingenommen und könnte daher bei der Unterscheidung zwischen der Lungenkrebs- und Bronchitisgruppe relevant gewesen sein.

4.5 Einsatz der Spürhunde zur Früherkennung von Lungenkarzinomen in der klinischen Praxis

Die Geruchserkennung von Lungenkarzinomen aus Atemproben könnte theoretisch für die Früherkennung von Lungenkrebs eingesetzt werden. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit reichen für einen klinischen Einsatz jedoch nicht aus. Weiteres Training wäre erforderlich. Die Tiere müssten lernen, dass nicht immer ein „Krebsröhrchen“ in einem Untersuchungsgang vorhanden ist. Sie müssten so konditioniert werden, dass sie dem Hundeführer auch anzeigen, wenn in keinem der Röhrchen „Krebsgeruch“ zu finden ist.

Eine weitere Einschränkung könnte sich daraus ergeben, dass in dieser Studie überwiegend fortgeschrittene Tumorstadien vertreten waren. Für das Screening in der klinischen Praxis müssten die Hunde auch frühe Stadien sicher erkennen.

Es ist auch nicht geklärt, ob die in dieser Studie trainierten Hunde tatsächlich auf Lungenkrebs oder nur unspezifisch auf maligne Tumore anschlagen. Zur Beantwortung dieser Frage wird derzeit eine Anschlussstudie vorbereitet, bei der Atemproben von Patienten mit Lungenkrebs mit Proben von Patienten mit anderen soliden Tumoren getestet werden.

Die Leistungsfähigkeit der Hunde unterliegt Schwankungen. So fiel in der hier vorliegenden Studie während des Trainings einer der ursprünglich fünf Hunde vermutlich infolge einer Scheinträchtigkeit aus. Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen ferner, dass es sinnvoll ist, die Anzeige mehrerer Spürhunde zu kombinieren („Gemeinschaftsanzeige“), um ein zuverlässiges Ergebnis zu bekommen.

Das Trainieren von Spürhunden ist zeit- und kostenintensiv. Zudem ist unklar, ob Hunde über längere Zeit zur Krebserkennung einsatzfähig bleiben. Der Geruchssinn könnte im Alter nachlassen. Man weiß also nicht, wie lange ein Hund nach so einem Training die geforderte Leistung erbringt. Da das intensive Schnüffeln für die Hunde sehr ermüdend ist, bleibt ein Spürhund auch nur für ca. 60 Minuten am Tag einsatzfähig.

Es wurde bisher nicht ausreichend belegt, ob der Geruchssinn von Hunden frei von Störungen durch andere volatile organische Verbindungen ist. Nach den vorliegenden Ergebnissen spielen aber Medikamente oder Nahrungsgewohnheiten [36] von Patienten mit Lungenkrebs vor der Probenentnahme keine Rolle.

4.6 Krebserkennung mittels elektronischer Nase

Inzwischen existieren verschiedene technische Verfahren zur elektronischen Erkennung volatiler organischer Verbindungen in der Ausatemluft (sogenannte elektronische Nase) [14, 27]:

- 1) die Ionenmobilitätsspektrometrie

- 2) die Protonen-Transfer-Reaktions-Massenspektrometrie in Kombination mit der Gaschromatographie-Massenspektrometrie
- 3) die Analyse von Atemluftkondensaten
- 4) die chemische Mustererkennung

Bei der Ionenmobilitätsspektrometrie korreliert die Kombination von bestimmten Peaks, die in der Ausatemluft gemessen wird, mit der Diagnose Lungenkrebs. Ähnlich der Geruchsdetektion durch Hunde kann dies nicht an einem oder mehreren organischen Verbindungen festgemacht werden, die in der Ausatemluft zu finden sind. Die Stoffe, die hinter den abgebildeten Peaks stehen, sind derzeit nicht identifiziert. Die Krankheits-Muster wurden durch den Vergleich von Mustern von Gesunden mit denen von Patienten mit Lungenkrebs ermittelt. Die Geräte verfügen über die Fähigkeit Teilchen bis in den Bereich von ng/l zu erfassen. Sie sind, verglichen mit anderen Methoden der elektronischen Nase, relativ handlich. Der Proband bläst direkt in das Gerät, die Analyse dauert ca. zehn Minuten. Eine prospektive Evaluation der Methode wurde bislang nicht veröffentlicht [58].

Die Protonen-Transfer-Reaktions-Massen-Spektrometrie kann besser die Quantität von Stoffen erfassen, jedoch keine Verbindungen sicher identifizieren. Die solide Phasenmikroextraktion mit anschließender Gaschromatographie - Massenspektrometrie ist wenig sensitiv für Stoffe, die in geringer Konzentration vorliegen, Stoffe können jedoch erkannt werden. Mit beiden Verfahren in Kombination können volatile organische Verbindungen erkannt werden, die jeweils in der ausgeatmeten Luft von Patienten mit Lungenkarzinom im Vergleich zum Exhalat von gesunden Personen erhöht oder erniedrigt sind. Durch die Bestimmung von vier verschiedenen Verbindungen konnte eine Sensitivität von 52% und eine Spezifität von 100% erreicht werden. Bei Bestimmung von 15 verschiedenen Verbindungen stieg die Sensitivität auf 71%. Die Atemproben wurden dazu in gasdichten Beuteln und Gasfläschchen gesammelt und mussten nach wenigen Stunden analysiert werden. Auch diese Methode wurde nicht prospektiv überprüft. Zudem ist die Gaschromatographie-

Massenspektrometrie eine vergleichsweise aufwendige Methode und als Screeningmethode daher wenig geeignet [5].

In Kondensaten aus der Ausatemluft konnten Stoffe identifiziert werden, die bei Patienten mit Krebs in anderen Konzentration vorhanden waren als bei gesunden Probanden. Für einen klinischen Einsatz ist die Methode jedoch noch zu aufwendig und wird daher noch weiter erforscht [10].

Auf der Basis einer chemischen Mustererkennung arbeitet die elektronische Nase Cyranose 320®. Sie kann Atemproben von Gesunden, Patienten mit chronisch obstruktiver Bronchitis und Patienten mit Lungenkrebserkrankung unterscheiden. Das Gerät ist handlich. Hier liegen ebenfalls noch keine prospektiven Studien an einer großen Patientenzahl vor [17].

Die elektronische Nase und die Identifizierung von volatilen organischen Verbindungen sind unabhängig vom Tumorstadium [27]. Manche volatilen organischen Verbindungen lassen sich nach Tumorsektion weiterhin in gleicher Konzentration beim Patienten nachweisen, andere sinken auf die Werte von gesunden Probanden ab. Daher wird auch hier vermutet, dass es sich einerseits um Substanzen handelt, die durch Stoffwechselreaktion auf den Tumor entstehen, andererseits um Substanzen, die direkt aus dem Tumor stammen [27].

Atemproben für sogenannte elektronische Nasen zu gewinnen ist aufwendig und störanfällig: Die Probenanalyse dauert im besten Fall mindestens zehn Minuten und die resultierenden Erkennungsraten variieren beträchtlich [27]. Daher ist es momentan schwierig vorherzusagen, wann klinisch einsetzbare Geräte zur Atemanalyse zur Verfügung stehen werden.

4.7 Ausblick

Die Ausatemluftanalyse liefert viel versprechende Ansätze für eine nicht invasive Lungenkrebs-Früherkennung. Die Ergebnisse dieser Studie geben Orientierungswerte für die Erkennung von Lungenkrebs aus Atemproben und die Unterscheidung zwischen Lungenkrebs und chronisch obstruktiver Bronchitis. Sie bestätigen die Hypothesen über einen bisher nicht bekannten

Marker, der eng mit Lungenkrebs assoziiert, doch unabhängig von COPD ist. Dieser Marker oder das Geruchsmuster ist in Gegenwart von Tabakrauch, Essensgerüchen und Medikamentenmetaboliten zuverlässig detektierbar. Die genaue Identifikation krankheitsspezifischer organischer Verbindungen, die in der Ausatemluft von Patienten mit Lungenkrebs beobachtet werden, wäre ein entscheidender Fortschritt zum Lungenkrebs-Screening. Um dies zu erreichen könnten weitere Untersuchungen mit Spürhunden vorgenommen werden:

Der parallele Einsatz verschiedener Methoden der elektronischen Nase wie auch von Spürhunden bei klar und eng definierten Probanden- bzw. Patientenkollektiven könnte helfen, ein lungenkrebspezifisches Profil von volatilen organischen Verbindungen weiter einzugrenzen.

Da die vorliegende Studie nur mit Patienten, die an Lungenkrebs erkrankt sind, durchgeführt wurde, kann keine Aussage darüber gemacht werden, ob die Erkennung spezifisch für das Lungenkarzinom ist. Möglicherweise ist die durch die Hunde erkannte Substanz typisch für einen malignen Tumor, aber nicht spezifisch für das Lungenkarzinom. Dies müsste in weiteren Studien überprüft werden.

Mit höheren Patientenzahlen und idealerweise auch mehr niedrigen Tumorstadien könnte geprüft werden, ob eine Erkennung des Lungenkrebses auch bei Spürhunden unabhängig vom Tumorstadium ist, wie dies für Untersuchungen mit elektronischen Nasen berichtet wird.

Eine Untersuchung von Tumorgewebe auf volatile organische Verbindungen könnte weiterhelfen, krebsspezifische Verbindungen in der Ausatemluft wiederzufinden, vorausgesetzt, der Tumor selbst ist der Ursprung dieser spezifischen Marker.

5. Zusammenfassung

Die Prognose eines Patienten mit Lungenkarzinom ist abhängig vom Tumorstadium. Daher ist die frühe Diagnose wichtig für eine erfolgreiche Therapie. Die Analyse von Ausatemluft als nicht invasive Methode wäre eine geeignete Methode für die Früherkennung, sollte sie sich als aussagekräftig erweisen. Einzelfallberichte weisen darauf hin, dass Spürhunde dies möglicherweise leisten können.

In der vorliegenden Studie wurden mit Hilfe eines professionellen Hundetrainers vier Hunde konditioniert, Atemproben von Patienten mit Lungenkarzinom von denen gesunder Probanden zu unterscheiden. In drei verblindeten Tests mussten die Hunde nicht nur Atemproben von Gesunden (Test I, n=50), sondern auch Atemproben von Patienten mit COPD (Test II, n=50) sowie Atemproben von einem Mischkollektiv aus Patienten mit COPD und Gesunden (Test III, n=25) von Atemproben von Patienten mit Lungenkrebs unterscheiden.

Für die Studie wurden insgesamt 220 Probanden gewonnen, davon 110 gesunde Studienteilnehmer, 60 Patienten mit histologisch gesichertem Lungenkrebs und 50 Patienten mit COPD. Für das Training wurden 35 Proben von Patienten mit Lungenkrebs und 60 Proben von gesunden Probanden verwendet. Es musste jeweils eine Probe eines Patienten mit Lungenkrebs unter vier Proben von gesunden Probanden erkannt werden. Mit zehn Durchgängen für jeden Hund ergab sich anschließend in Test I eine Sensitivität von 50% und eine Spezifität von 88% durch die Anzeige der Tiere. Test II bestand ebenfalls aus 10 Durchgängen für jeden Hund. Hier wurden erstmals Proben von Patienten mit COPD anstatt der Atemproben von gesunden Probanden verwendet. Dabei zeigten die Hunde den Lungenkrebs mit einer Sensitivität von 80% und einer Spezifität von 95% an. In weiteren fünf Durchgängen wurden in Test III jeweils eine Positivprobe gegen zwei Proben von Patienten mit COPD und 2 Proben von gesunden Probanden aufgestellt. Hier ergab sich eine Sensitivität von 95% und eine Spezifität von 95%. Fasst man alle drei Tests zusammen und wertet nur die Proben als positiv aus, bei denen drei und mehr Hunde angezeigt haben, so ergibt sich eine

„Gemeinschaftsanzeige“ mit einer Sensitivität von 72% und eine Spezifität von 90%.

Bei den für die Tests verwendeten Atemproben stammten 36% von Patienten mit kurativ behandelbaren Tumorstadien (I-III A). Aufgrund der niedrigen Fallzahl in den einzelnen Tumorstadien kann die statistische Auswertung eine Korrelation zwischen Tumorstadium und Anzeigeverhalten der Hunde nicht ausschließen. Es zeigt sich jedoch keine erhöhte Fehlerrate der Spürhunde bei den niedrigen Tumorstadien.

Ein Einfluss möglicher methodischer Störfaktoren in der Gruppenzusammensetzung wie Probenalter und Patientenalter wurde statistisch ausgeschlossen. Auch mögliche systematische Störfaktoren wie Medikamenteneinnahme und Begleiterkrankungen der Studienteilnehmer wurden erfasst und ausgeschlossen. Lediglich die Einnahme von Metoprolol und Tiotropiumbromid stellen in der multivariaten Analyse einen möglichen Studien-Bias dar.

Ob Spürhunde Lungenkrebs in der Atemluft von Patienten von anderen Krebsarten unterscheiden können und ob sie sich eignen, als Screeningmethode eingesetzt zu werden, bleibt offen. Zur weiteren Forschung um möglicherweise eine lungenkrebspezifische volatile organische Verbindung aus der Atemluft zu identifizieren, können sie sicherlich auch in Zukunft einen Beitrag leisten.

6. Literaturverzeichnis

- 1 Alberg AJ, Samet JM. Epidemiology of lung cancer. In: Sadler MJ, Caballero B, Strain J, Hrsg. Encyclopedia of human nutrition. London: Academic Press. 2005: 272-284.
- 2 Al-Kattan K, Sepsas E, Townsend ER, Fountain SW: Factors affecting long term survival following resection for lung cancer. *Thorax*. 1996; 51: 1266-1269.
- 3 Al-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.
- 4 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: 62-68.
- 5 Bajtarevic A, Ager C, Pienz M, Kleber M, Schwarz K, Ligor M, Ligor T, Filipiak W, Denz H, Fiegl M, Hilbe W, Weiss W, Lukas P, Jamnig H, Hackl M, Haidenberger A, Buszewski B, Miekisch W, Schubert J, Amann A. Noninvasive detection of lung cancer by analysis of exhaled breath. *BMC Cancer*. 2009; 9: 348.
- 6 Barnett SC, Chang L. Olfactory ensheathing cells and CNS repair: Going solo or in need of a friend? *Trends Neurosci*. 2004; 27: 54-60.
- 7 Billé A, Pelosi E, Skanjeti A, Arena V, Errico L, Borasio P, Mancini M, Ardisson F. Preoperative intrathoracic lymph node staging in patients with non-small-cell lung cancer: accuracy of integrated positron emission tomography and computed tomography. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2009; 36: 440-445.
- 8 Blank T, Nijholt I, Kye M, Radulovic J, Spiess J. Small-conductance, Ca²⁺-activated K⁺ channel SK3 generates age-related memory and LTP deficits. *Nat Neurosci*. 2003;6: 911-912.
- 9 Bock PPM. Immunhistochemische Charakterisierung vom olfaktorsichen Rezeptorneuronen und Gliazellen in der Riechschleimhaut des Hundes. Dissertation tierärztliche Hochschule Hannover 2009. Online im Internet: URL: http://elib.tiho-hannover.de/dissertations/bockp_ss09.html. (Letzter Zugriff: 05.04.2011).
- 10 Chan HP, Lewis C, Thomas PS. Exhaled breath analysis: Novel approach for early detection of lung cancer. *Lung Cancer*. 2009; 63: 164-168.
- 11 Church J, Williams H. Another sniffer dog fort the clinic ? *Lancet*. 2001; 358: 930.
- 12 Craven BA, Neuberger T, Paterson EG, Webb AG, Josephson EM, Morrison EE, Settles GS. Reconstruction and morphometric analysis of the nasal airway of the dog (canis familiaris) and implications regarding olfactory airflow. *The anatomical record*. 2007; 290: 1325-1340.

- 13 Craven BA, Paterson EG, Settles GS. The fluid dynamics of canine olfaction: unique nasal airflow patterns as an explanation of macrosmia. *J R Soc Interface*. 2010; 47: 933-943.
- 14 D'Amico A, Pennazza G, Santonico M, Martinelli E, Roscioni C, Galluccio G, Paolesse R, Di Natale C. An investigation on electronic nose diagnosis of lung cancer. *Lung Cancer*. 2010 ; 68: 170-176.
- 15 Detterbeck FC, Gibson CJ. Turning gray: The natural history of lung cancer over time. *J Thorac Oncol*. 2008; 3: 781-792.
- 16 Di Natale C, Macagnano A, Martinelli E, Paolesse R, D'Arcangelo G, Roscioni C, Finazzi-Agrò A, D'Amico A. Lung cancer identification by the analysis of breath by means of an array of non-selective gas sensors. *Biosens Bioelectron*. 2003; 18: 1209-1218.
- 17 Dragonieri S, Annema JT, Schot R, van der Schee MPC, Spanevello A, Carratù P, Resta O, Rabe KF, Sterk PJ. An electronic nose in the discrimination of patients with non small lung cancer and COPD. *Lung cancer*. 2009; 64: 166-170.
- 18 Gesundheitsberichterstattung des Bundes. In: *Gesundheit in Deutschland*. 2006; Online im Internet: URL: http://www.gbe-bund.de/gbe10/ergebnisse.prc_pruef_verweise?p_fid=10414&sprache=D&p_ftyp=TXT&p_uid=gastq&p_aid=37593315&p_hlp_nr=&p_vtrau=4&p_pspkz=D&p_sspkz=&p_wsp=&p_sprachkz=D&p_lfd_nr=39&p_news=&p_window=&p_modus=2&p_th_id=&p_suchstring=&p_janein=J. (letzter Zugriff: 05.04.2011)
- 19 Gittleman JL. Carnivore olfactory bulb size: allometry, phylogeny, ecology. *J Zool Lond*. 1991; 225: 253-272.
- 20 Goldstraw P. IASLC Staging Manual in Thoracic Oncology, International Association for the Study of Lung Cancer. Editorial Rx 2009, ISBN 978-0-9799274-4-7.
- 21 Gordon RT, Schatz CB, Myers LJ, Kosty M, Gonczy C, Kroener J, Tran M, Kurtzhals P, Heath S, Koziol JA, Arthur N, Gabriel M, Hemping J, Hemping G, Nesbitt S, Tucker-Clark L, Zaayer J. The use of canines in the detection of human cancers. *J Altern Complement Med*. 2008; 14: 61-67.
- 22 Gottfried JA, Zald DH. On the scent of human olfactory orbitofrontal cortex: Meta-analysis and comparison to non-human primates. *Brain Res Rev*. 2005; 50: 287-304.
- 23 Hammerschmidt S, Wirtz H. Lung cancer: Current diagnosis and Treatment. *Dtsch Arztebl Int* 2009; 106: 809-820.
- 24 Henschke CI, Yankelevitz DF, Libby DM, Pasmantier MW, Smith JP, Miettinen OS. Survival of patients with stage I lung cancer detected on CT screening. International Early Lung Cancer Action Program Investigators. *New Engl J Med*. 2006; 355: 1763-1771.
- 25 Horvath G, Järverud GA, Järverud S, Horvath I. Human ovarian carcinomas detected by specific odor. *Integr Cancer Ther*. 2008; 7: 76-80.
- 26 Horvath G, Andersson H, Paulsson G. Characteristic odour in the blood reveals ovarian Carcinoma. *BMC Cancer* 2010; 10: 643.

- 27 Horváth I, Lazar Z, Gyulai N, Kollai M, Losonczy G. Exhaled biomarkers in lung cancer. *Eur Respir J*. 2009; 34: 261-275.
- 28 Interdisziplinäre S3-Leitlinie der Deutschen Gesellschaft für Pneumologie und Beatmungsmedizin und der Deutschen Krebsgesellschaft: Prävention, Diagnostik, Therapie und Nachsorge des Lungenkarzinoms. 2010; Online im Internet: URL: http://www.krebsgesellschaft.de/download/s3-ll_lungenca_2010.pdf. (Letzter Zugriff: 05.04.2011).
- 29 Jeffreys D. Amazing dog sniffs out cancer. *Daily Mail* 1997; Apr 22: 45.
- 30 Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Murray T, Thun MJ. Cancer statistics, 2008. *Cancer J Clin* 2008; 58: 71-96.
- 31 Kubota K. From tumor biology to clinical Pet: a review of positron emission tomography (PET) in oncology. *Ann Nucl Med*. 2001; 15: 471-486.
- 32 Libby DM, Smith JP, Altorki NK, Pasmantier MW, Yankelevitz D, Henschke CI: Managing the small pulmonary nodule discovered by CT. *Chest*. 2004; 125: 1522-1529.
- 33 Machado RF, Laskowski D, Deffenderfer O, Burch T, Zheng S, Mazzone PJ, Mekhail T, Jennings C, Stoller JK, Pyle J, Duncan J, Dweik RA, Erzurum SC. Detection of lung cancer by sensor array analyses of exhaled breath. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005; 171: 1286-1291.
- 34 Manser RL, Irving LB, Byrnes, Abramson MJ, Stone CA, Campbell DA. Screening for lung cancer: a systematic review and meta-analysis of controlled trials. *Thorax* 2003; 58: 784-789.
- 35 Mathers CD, Loncar D. Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030. *PLoS Med* 2006; 3: e442.
- 36 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: 30-39.
- 37 Moser E, McCulloch M. Canine scent detection of human cancers: A review of methods and accuracy. *J Vet Behav*. 2010; 5: 145-152.
- 38 Müller A. Quantitative Untersuchungen am Riechepithel des Hundes. *Zeitschrift für Zellforschung* 1955; 41:335-350.
- 39 Neuhaus W. Über die Riechschärfe des Hundes für Fettsäuren. *Z Vergl Physiol*. 1953; 35: 527-552.
- 40 Ooi GC, Khong PL, Yau YY. Advances in imaging of the solitary pulmonary nodule. *Hong Kong Med J* 2004; 10: 107-116.
- 41 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; 68: 2374-2376.
- 42 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; 729: 75-88.
- 43 Pickel DP, Manucy GP, Walker DB, Hall SB, Walker JC. Evidence for canine olfactory detection of melanoma. *Appl Anim Behav Sci*. 2004; 89: 107-116.

- 44 Pihlström H, Fortelius M, Hemilä S, Forsman R, Reuter T. Scaling of mammalian ethmoid bones can predict olfactory organ size and performance. *Proc R Soc B*. 2005; 272: 957-962.
- 45 Quinon P, Kirkness E, Cadieu E, Touleimat N, Guyon R, Renier C, Hitte C, André C, Fraser C, Galibert F. Comparison of the canine and human olfactory receptor gene repertoires. *Genome Biol*. 2003; 4: R80.
- 46 Robert Koch-Institut und Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland GEKID, Hrsg. Krebs in Deutschland, Häufigkeiten und Trends. 6. überarbeitete Auflage Berlin: Robert-Koch-Institut, 2008.
- 47 Rouquier S, Blancher A, Giorgi D. The olfactory receptor gene repertoire in primates and mouse: Evidence for reduction of the functional fraction in primates. *Proc Natl Acad Sci*. 2000; 97: 2870-2874.
- 48 Schmidt U. Mit „Rauchfrei 2006“ gesünder leben. Bundesministerium für Gesundheit, Pressemitteilung 20. April 2006.
- 49 Schneider J, Peltri G, Bitterlich N, Neu K, Velcovsky HG, Morr H, Katz N, Eigenbrodt E. Fuzzy logic-based tumor marker profiles including a new marker tumor M2-PK improved sensitivity to the detection of progression in lung cancer patients. *Anticancer Res* 2003; 23: 899-906.
- 50 Seifart C. Lungenkrebs: Oft spät erkannt und kaum behandelbar. *Pharmazeutische Zeitung online*. 2006; 30. Online im Internet: URL: <http://www.pharmazeutische-zeitung.de/index.php?id=1589>. (Letzter Zugriff: 05.04.2011).
- 51 Serke M, Schönfeld M. Lungenkarzinom: Diagnostik und Staging. *Dtsch Med Wochenschr*. 2007; 132: 1165-1169.
- 52 Sponring A, Filipiak W, Mikoviny T, Ager C, Schubert J, Miekisch W, Amann A, Troppmair J. Release of volatile organic compounds from the lung cancer cell line NCI-H2087 in vitro. *Anticancer Res*. 2009; 29: 419-426.
- 53 Statistisches Bundesamt Deutschland. Lungenkrebs ist die vierthäufigste Todesursache. Wiesbaden: 2007. Online im Internet: URL: www.destatis.de/jet-speed/portal/cms/Sites/destatis/Internet/DE/Presse/pm/2007/05/PD07_217_232.psm; Stand: 18.11.2007. (Letzter Zugriff: 05.04.2011).
- 54 Thews G. Lungenatmung, in: *Physiologie des Menschen*, hrsg. von: Schmidt RF, Thews G. 24. Auflage. Berlin, Heidelberg, New York, London, Paris, Tokyo 1990. S. 579-592. ISBN 3-540-52643-9.
- 55 Vogelmeier C, Buhl R, Criée CP, Gillissen A, Kardos P, Köhler D, Magnussen H, Morr H, Nowak D, Pfeiffer-Kascha D, Petro W, Rabe K, Schultz K, Sitter H, Teschler H, Welte T, Wettengel R, Worth H; Deutsche Atemwegsliga; Deutsche Gesellschaft für Pneumologie und Beatmungsmedizin. Leitlinie der Deutschen Atemwegsliga und der Deutschen Gesellschaft für Pneumologie und Beatmungsmedizin zur Diagnostik und Therapie von Patienten mit chronisch obstruktiver Bronchitis und Lungenemphysem (COPD). *Pneumologie*. 2007; 61: 517.
- 56 Walker DB, Walker JC, Cavnar P, Taylor JL, Pickel DH, Hall SB, Suarez JC. Naturalistic quantification of canine olfactory sensitivity. *Appl Anim Behav Sci*. 2006; 97: 241-254.

- 57 Welsh JS. Olfactory detection of human bladder cancer by dogs. Another cancer detected by “pet scan”.BMJ 2004; 329: 1286-1287.
- 58 Westhoff M, Litterst P, Freitag L, Urfer W, Bader S, Baumbach JI. Ion mobility Spectrometry for detection of volatile organic compounds in exhaled breath of patients with lung cancer: result of a pilot study. Thorax 2009; 64: 744-748.
- 59 Wichmann HE, Molik B, Pott F, Jöckel KH. Luftverunreinigungen und Lungenkrebs – Ergebnisse einer Pilotstudie. Umweltbundesamt Berlin: Erich Schmidt, 1991.
- 60 Williams H, Pembroke A. A sniffer dog in the melanoma clinic? Lancet 1989; 1: 734.
- 61 Willis CM, Church SM, Guest CM, Cook WA, McCarthy N, Bransbury AJ, Church MRT, Church JCT. Olfactory detection of human bladder cancer by dogs: proof of principle study. BMJ. 2004; 329: 712.
- 62 Friedrich U. TEAMCANIN Coaching für Mensch und Hund. „o.J“. Online im Internet: URL: <http://www.teamcanin.com/index.php>. (Letzter Zugriff: 05.04.2011).
- 63 Yao H, Rahman I. Current concepts on the role of inflammation in COPD and lung cancer. Curr Opin Pharmacol. 2009; 9: 375-383.

7. Anhang

7.1 Konditionierungsprotokoll der Spürhunde³

Spürhunde werden für verschiedenste Zwecke trainiert. Dazu gibt es unterschiedliche Methoden, die zum Erfolg führen. Hier wird das Vorgehen in der vorliegenden Studie beschrieben.

7.1.1 Auswahl geeigneter Hunde

Für das Training eignen sich Hunde, die bereits ein Grundgehorsam beherrschen. Die Tiere sollten mindestens ein halbes Jahr alt sein. Konzentrationsfähigkeit und Motivierbarkeit durch Belohnung mit Futtergabe sind wichtige Voraussetzungen.

7.1.2 Räumliche Voraussetzungen

Ein geschlossener Raum möglichst ohne Fenster schirmt vor Ablenkungen ab. Eine Kontamination durch andere Gerüche sollte weitest möglich vermieden werden. Daher ist es sinnvoll, den Raum ausschließlich für den vorgesehenen Zweck zu verwenden.

Fünf Probenhalterungen werden kreisförmig aufgestellt. Die Metallhalterungen sind rohrförmig, so dass die Beschriftung am unteren Ende des Probenröhrchens darin verschwindet. Sie werden auf Betonplatten befestigt, damit sie nicht umfallen können (Abb. 8 C).

Die Installation von zwei blickdichten Vorhängen ist erforderlich. Hinter dem einen halten sich Hundeführer und Hund während der Positionierung der Probenröhrchen auf. Hinter dem zweiten sitzt der Versuchsleiter während der Suche des jeweiligen Hundes.

³ Erstellt in Zusammenarbeit mit Uwe Friedrich, Hundetrainer des Hundezentrums TEAMCANIN in Löffingen [45].

7.1.3 „Clicker“-Methode

Den Hunden wird durch ein akustisches Signal, den „Click“, die Richtigkeit eines gezeigten Verhaltens angezeigt. Der „Click“ wird mittels eines Plastikgerätes erzeugt, das der Hundeführer oder eine andere Person beim Training (und später auch bei den Tests) zwischen Daumen und Zeigefinger einer Hand führt. Zunächst erfolgt mit dem „Click“ unmittelbar die Gabe einer Belohnung in Form der Gabe von Futter. Nach erfolgreicher Konditionierung auf das Signal, wirkt dieses als positiver Verstärker. Eine Belohnung kann dann mit zeitlicher Verzögerung oder erst nach zweimaliger Betätigung des Signals erfolgen.

7.1.4 Trainingsaufbau

Zunächst wird das bloße Schnüffeln an der Krebsprobe durch einen „Click“ mit anschließender Gabe von Futter bestätigt (Tab. 7, 1. Phase). Dabei hält der Hundeführer die Probe zunächst noch in der Hand.

Als nächstes wird beim Schnüffeln an der Krebsprobe das Kommando „Platz“ zum Hinlegen gegeben. Erst wenn der Hund an der Probe liegt, erfolgt das „Click“ und die Gabe von Futter. Der Hundeführer hält das Röhrchen weiterhin in der Hand (Tab.7, 2. Phase).

In der folgenden Trainingsphase wird die Positivprobe in einer der speziell für die Studie konstruierten Halterungen platziert (Abb. 8). Die übrigen Halterungen werden zunächst mit nicht beatmeten Röhrchen bestückt, nachher mit Proben von gesunden Probanden. Die Position der Krebsprobe wird jeweils durch Würfeln randomisiert (Abb. 8D). Bei einer „6“ wird erneut gewürfelt, da in der vorliegenden Studie nur fünf Positionen zu besetzen sind. Auf Kommando läuft der Hund die Proben entlang, kann unbegrenzt an den Röhrchen schnüffeln bis er sich für eines entscheidet. Der Hund muss sich spontan ohne Kommando hinlegen, sobald er die Positivprobe erkennt. Die Nase muss dabei am Röhrchen bleiben (Abb. 8F). Dann erfolgt der „Click“ und die Gabe von Futter (Tab. 7, 3.Phase).

Sobald die Hunde sicher im Erkennen der Proben werden, wird der Hundeführer in der anschließenden Trainingsphase nicht mehr über die

Position der „Krebsprobe“ in Kenntnis gesetzt. Er steht mit dem Hund hinter einem blickdichten Vorhang, während die Röhren auf die fünf Halterungen verteilt werden. Der Versuchsleiter löst den „Click“ aus, nachdem der Hund die Positivprobe richtig erkennt und dies auf oben genannte Weise anzeigt. Futter erhält der Hund weiter durch den Hundeführer (Tab. 7, 4. Phase).

In der letzten Phase des Trainings sitzt dann der Versuchsleiter während der Suche des Hundes hinter einem zweiten blickdichten Vorhang. Der Hundeführer ruft ihm die Position zu, für die sich der Hund entscheidet (die Positionen werden mit Nummer eins bis fünf benannt). Liegt der Hund richtig, wird durch den Versuchsleiter der „Click“ ausgelöst. Die Belohnung erfolgt wieder durch den Hundeführer. Hierdurch ist eine doppelte Verblindung gewährleistet (Tab. 7, 5. Phase).

7.1.5 Testbedingungen

Entsprechend der letzten Phase des Trainings werden auch die Tests durchgeführt. Hier werden jedoch neue, den Hunden unbekannt Proben verwendet. Jede Atemprobe wird jedem Hund nur einmal vorgelegt, so dass ein Wiedererkennen nicht möglich ist. Jede Anzeige der Hunde wird dokumentiert.

7.1.6 Limitationen

Für optimale Bedingungen im Training dürfte auch hier jede Atemprobe bei jedem Hund nur einmal verwendet werden. Da jedoch für das Training viele Durchgänge erforderlich sind, ist es in einer monozentrischen Studie kaum möglich ausreichend Proben für ein kompaktes intensives Training zur Verfügung zu stellen. Proben müssten dazu über lange Zeit gesammelt werden, bevor mit Training und Tests begonnen werden kann. Legt man aber fest, dass das Probenalter nicht mehr als zwei Monate betragen sollte, zieht sich das Training über einen langen Zeitraum hin und der Trainingseffekt wäre gering.

7.2 Hundenase

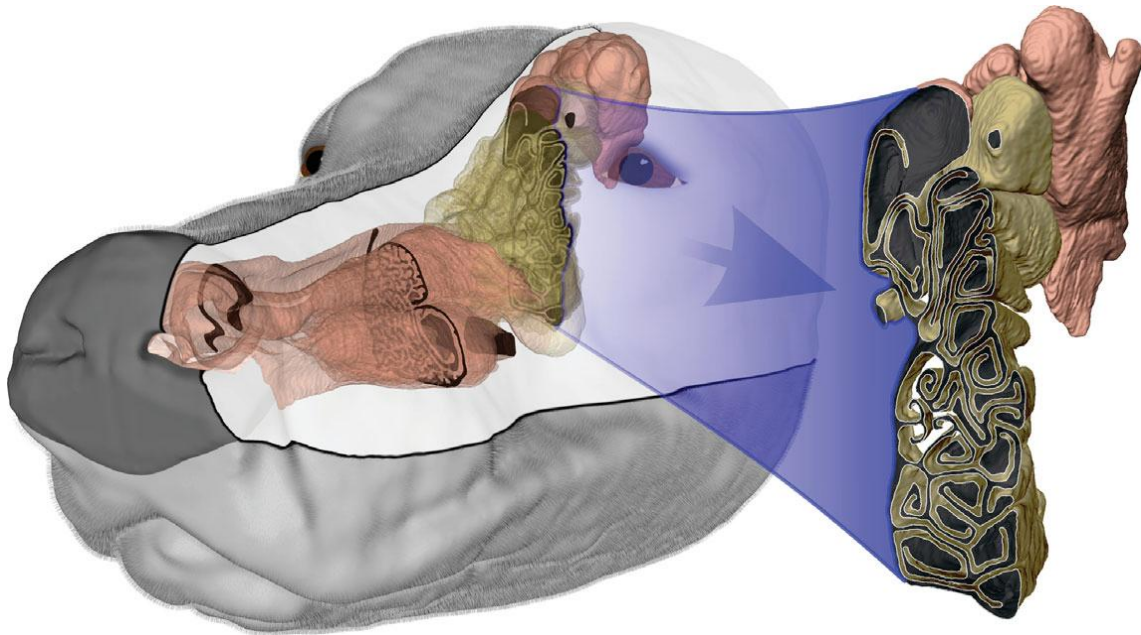
Die Schwelle der Geruchswahrnehmung des Hundes liegt für einige Geruchsstoffe bei Konzentrationen, die etwa 10 000 bis 100 000 fach niedriger sind als beim Menschen [13, 56]. Für andere Geruchsstoffe werden Schwellenkonzentrationen für Hunde angegeben, die 1/100 bis 1/10 000 niedriger als beim Menschen sind [39]. Diese Phänomene können durch verschiedene anatomische, histologische, genetische und physiologische Unterschiede erklärt werden.

7.2.1 Anatomie

Das olfaktorische System vom Hund gliedert sich wie beim Menschen in einen zentralen und einen peripheren Anteil. Der Bulbus olfactorius (lateinisch für Riechkolben), der olfaktorische Cortex (Großhirnrinde) sowie weitere Hirnregionen, z.B. der Hypothalamus, in die der Bulbus olfactorius Projektionen entsendet, stellen den zentralen, das olfaktorische Epithel, der olfaktorische Nerv und die Nervenfaserschicht des Bulbus olfactorius den peripheren Anteil dar [9].

Die Nasenhöhle ist durch das Septum in zwei symmetrische bilaterale Luftwege getrennt. Jeder Luftweg ist in drei anatomische Regionen eingeteilt: nasal vestibulär (Vorhof), respiratorisch und olfaktorisch (Abb. 12) [13].

Abb. 12: Der Luftweg in der Hundenase [12, 13]⁴



Orange: respiratorische Region mit nicht sensorischem Epithel, grün: olfaktorische Region mit sensorischem Epithel

Das Vestibulum ist der vordere Teil. Weiter hinten liegt die respiratorische Region. Sie enthält die vordere und hintere Nasenmuschel. Die vordere Nasenmuschel wird auch Maxilloturbinalen genannt. Sie verzweigt sich und hängt an der mittleren Oberfläche der Maxilla (Oberkiefer). Durch die komplizierte Struktur hat sie eine große Oberfläche, um Wärme und Feuchtigkeit zu transferieren und die eingeatmete Luft zu säubern. Hinter der respiratorischen Region liegt der olfaktorische Teil der Nase mit der ethmoidalen Muschel, die auch die Ethmoturbinalen genannt wird. Die Ethmoturbinalen bieten eine große Oberfläche für den Transfer von Geruchsstoffen. Schließlich liegen noch die Stirnhöhlen dorsal an der ethmoidalen Region. Ein Teil der hinteren Ethmoturbinalen dehnen sich in diese Höhlen aus (Abb. 12 und 13).

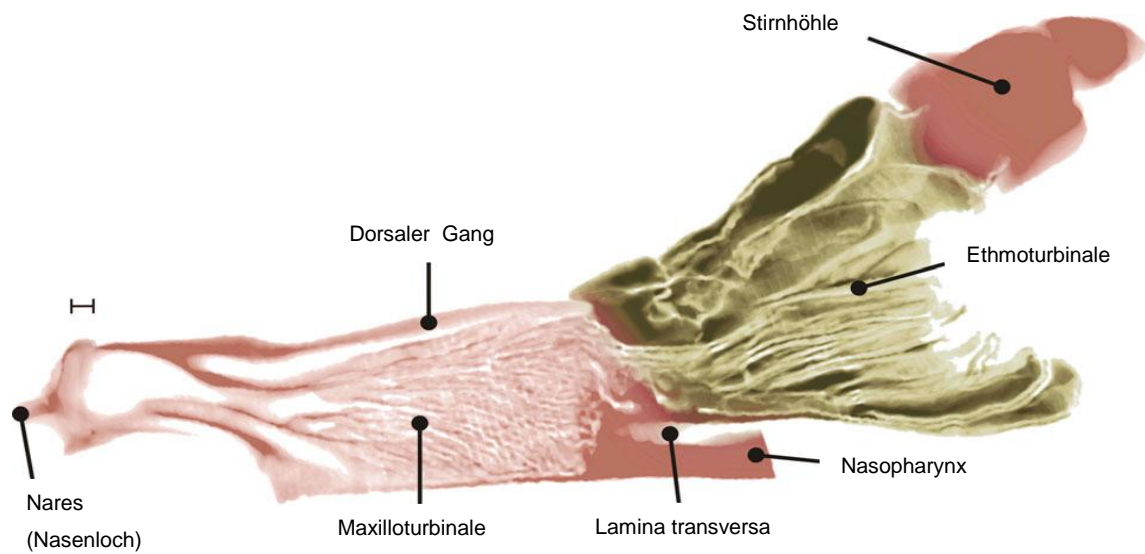
⁴ Mit freundlicher Genehmigung der Royal Society und des Autors Brent A. Craven wurde die Abb. 1 S. 2 der folgenden Publikation übernommen: Craven BA, Paterson EG, Settles GS. The fluid dynamics of canine olfaction: unique nasal airflow patterns as an explanation of macrosmia. J R Soc Interface. 2010; 47: 933-943

Am vorderen Teil des Nasenseptums in der maxilloturbinalen Region befindet sich eine Protuberantia (höckerförmige Vorwölbung). Sie wird als Schwellkörper zur Regulierung des respiratorischen Luftflusses beschrieben. Bei ausgedehntem Schwellkörper wird der Luftfluss durch die Maxilloturbinale geleitet. Wenn der Schwellkörper kollabiert, zieht der Luft unterhalb der Maxilloturbinale in den Nasopharynx [13].

Die ausgeprägte anatomische Struktur ist ein Zeichen für die Ausprägung der Geruchswahrnehmung [13]. Durch Messungen an Schädeln verschiedener Säugetiere konnte gezeigt werden, dass die absolute Riechschwelle einzelner Säugetiere mit der absoluten olfaktorischen Organgröße zu korrelieren scheint, nicht aber der Quotient Siebbein-/ Schädelgröße. Die Größe des Siebbeins ist direkt proportional zur Größe des olfaktorischen Epithels. Die Maße eines menschlichen Siebbeins liegen weit unter denen eines Deutschen Schäferhundes [44].

Die olfaktorische Schleimhaut ist bei Makrosmaten (Lebewesen mit sehr gut entwickeltem Geruchsinn) in eine „olfaktorische Nische“ verbannt, die in der hinteren Nasenhöhle lokalisiert und vom hauptsächlich respiratorischen Luftfluss durch eine knöcherne Platte (Lamina transversa) ausgeschlossen ist. Die olfaktorische Nische zeigt sich in seiner höchsten Perfektion beim Hund, fehlt aber bei mikrosomatischen Primaten wie z.B. beim Mensch (Abb. 13 und 14) [13].

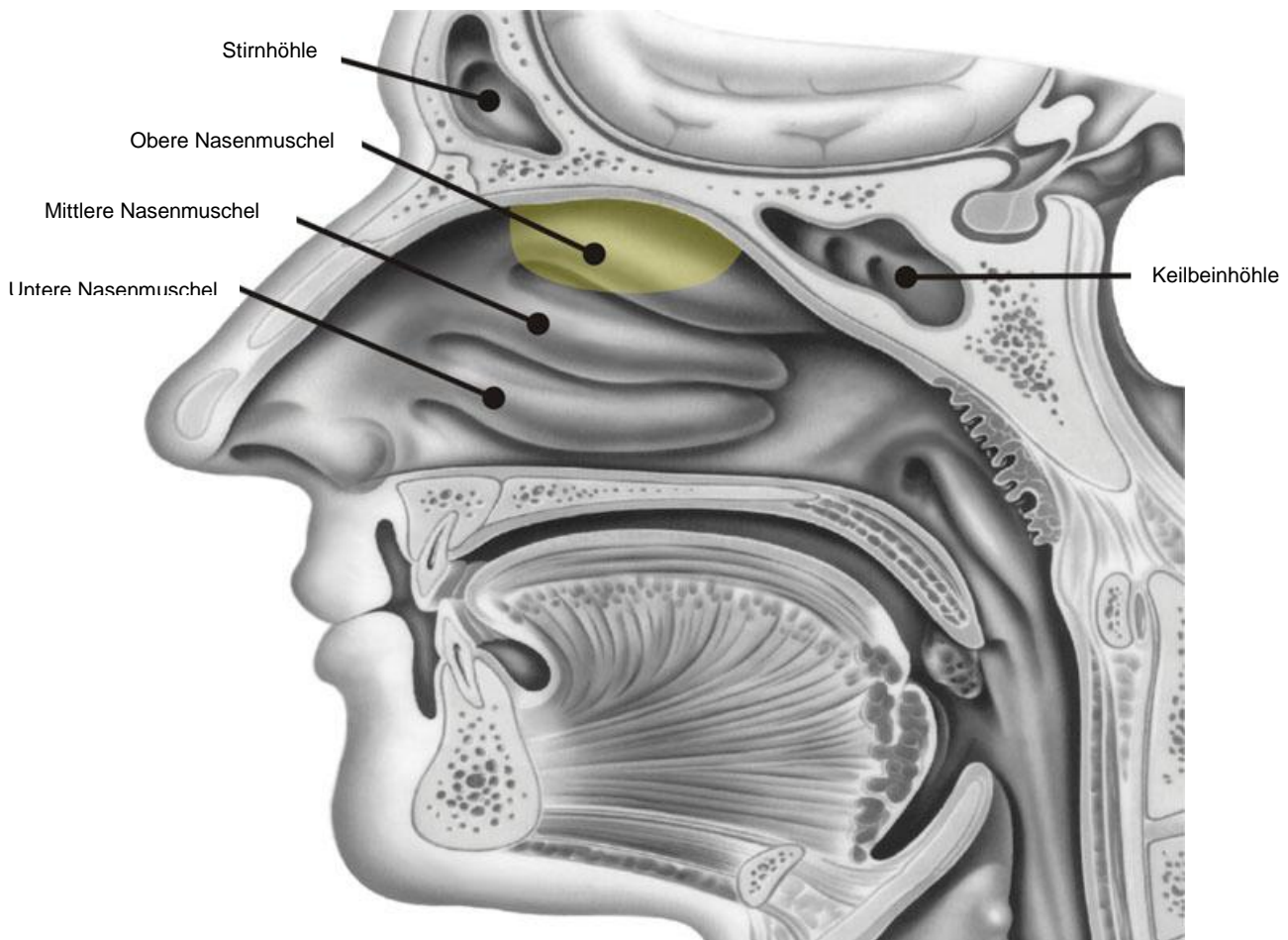
Abb. 13: Eine sagittale Sektion des nasalen Luftweges vom Hund [13].⁵



Gelb: olfaktorische Region, pink: respiratorische Region

⁵ Mit freundlicher Genehmigung der Royal Society und des Autors Brent A. Craven wurde die Abb. 2a S. 3 der folgenden Publikation übernommen: Craven BA, Paterson EG, Settles GS. The fluid dynamics of canine olfaction: unique nasal airflow patterns as an explanation of macrosmia. J R Soc Interface. 2010; 47: 933-943

Abb. 14: Eine sagittale Sicht auf den menschlichen nasalen Luftweg [13].⁶



Gelb: olfaktorische Region

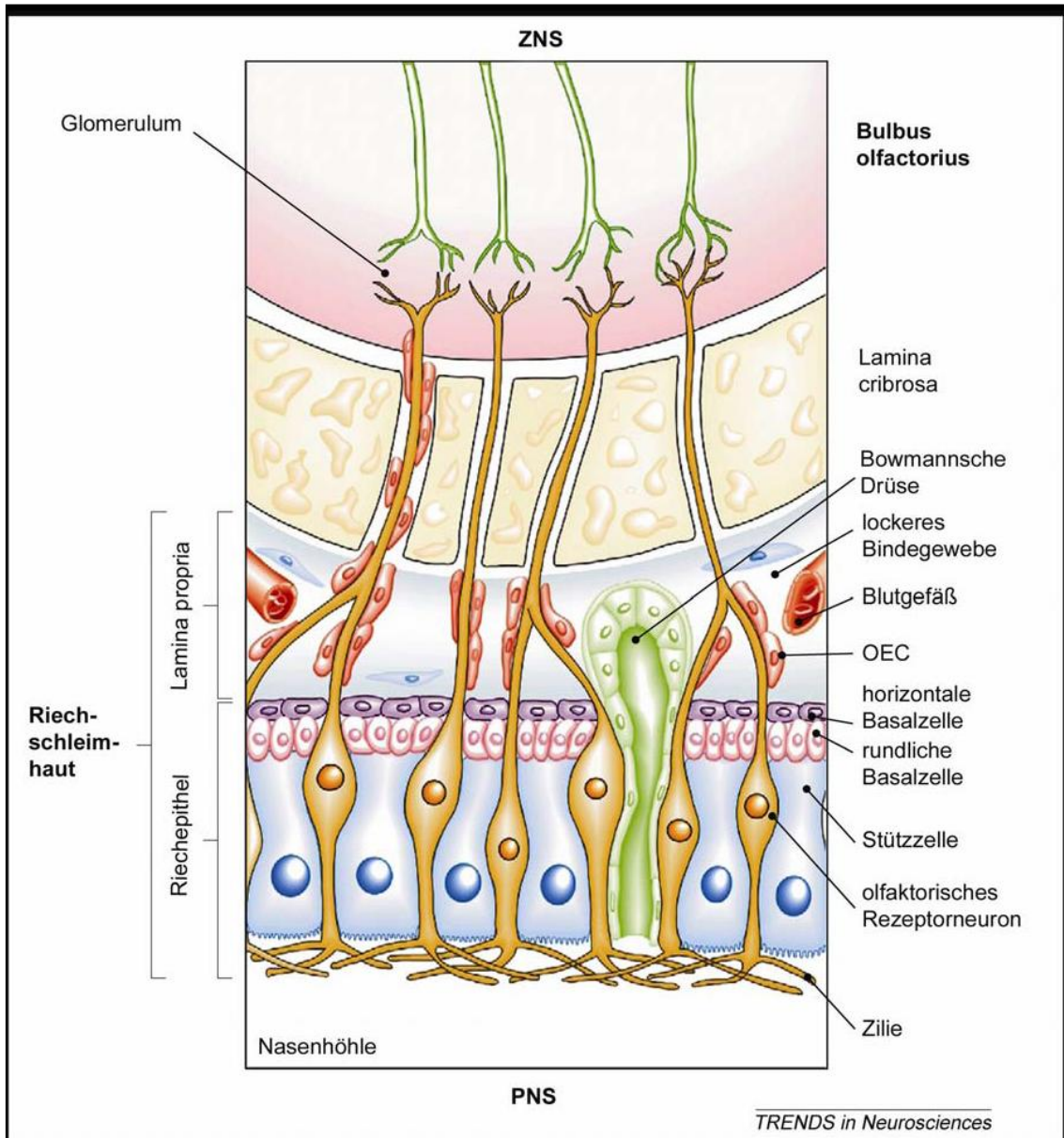
7.2.2 Histologie

Der Wechsel von respiratorischen zu olfaktorischen Epithel in der vorderen Ethmoidalregion ist nicht genau definiert. Man findet Gruppen von olfaktorischen Zellen zwischen nicht sensorischen Zellen. Die Stirnhöhlen sind

⁶ Mit freundlicher Genehmigung der Royal Society und des Autors Brent A. Craven wurde die Abb. 2b S. 3 der folgenden Publikation übernommen: Craven BA, Paterson EG, Settles GS. The fluid dynamics of canine olfaction: unique nasal airflow patterns as an explanation of macrosmia. J R Soc Interface. 2010; 47: 933-943

mit respiratorischen Epithelien ausgekleidet. Nur dort, wo sich die Ethmoturbinen in die Stirnhöhle ausdehnen, findet man olfaktorisches Epithel. Olfaktorische Rezeptorzellen sind bipolare Neurone. Sie sind im olfaktorischen Epithel enthalten und projizieren dendritische Fortsätze an die Epitheloberfläche. Die Dendriten haben knopfförmige Enden, von denen 10 bis 60 sensorische Zilien ausgehen. Diese formen einen dichten Teppich von Zilien an der Epitheloberfläche. Die unbeweglichen Zilien sind der Ort der anfänglichen sensorischen Erregung. Diese Erregung tritt auf, wenn ein Proteinrezeptor in der Plasmamembran durch einen Geruchstoff aktiviert wird. Durch Sekretion wird die Schleimhaut der Nasenhöhle befeuchtet. Ohne Feuchtigkeit würden die Zilien absterben [13]. Der spindelförmig erweiterte Mittelteil der olfaktorischen Rezeptorzellen mit dem runden Zellkern liegt im basalen und mittleren Drittel des Riechepithels. Die Axone durchdringen die Basalmembran und werden in der Lamina propria von olfaktorischen Hüllzellen umgeben und vereinigen sich zu den Nervi olfactorii, die durch die Lamina cribrosa des Siebbeins hindurch, über die Nervenfaserschicht in den Bulbus olfactorius eintreten (Abb. 15) [9].

Abb. 15: Schematische Darstellung des Riechepithels mit den von olfaktorischen Hüllzellen umgebenen Axonen auf ihrem Weg zum Bulbus olfactorius [9] modifiziert nach [6].



Das Riechepithel beim Hund besteht aus 125 Millionen (Dackel) bis 225 Millionen (Schäferhund) olfaktorischen Rezeptorzellen, beim Menschen aus ca. 30 Millionen [9, 38]. Die Fläche des olfaktorischen Epithels beträgt beim Hund durchschnittlich 100 cm², beim Menschen nur 10 cm² [47].

7.2.3 Olfaktorische Rezeptorgene

Die Riechschleimhaut mit dem olfaktorischen Epithel variiert in der Größe zwischen den verschiedenen Hunderassen, kann aber im Vergleich zum Menschen bis zu 20 mal mehr olfaktorische Rezeptorgene exprimieren. Dies trägt zweifellos zu der Fähigkeit bei, Geruchsmoleküle in wesentlich geringeren Konzentrationen zu detektieren. Das Repertoire an olfaktorischen Rezeptorgenen scheint beim Hund 30% größer als beim Menschen zu sein. Der Hund hat außerdem eine wesentlich geringere Anzahl an Pseudogenen, also an Genen, die keine funktionsfähigen olfaktorischen Rezeptoren mehr exprimieren können [45]. Beim Menschen haben sich 70% der olfaktorischen Rezeptorgene zu Pseudogenen entwickelt [47]. Dies könnte die Zahl der funktionierenden olfaktorischen Rezeptorgene vom Hund im Vergleich zum Menschen ungefähr verdoppeln [45].

7.2.4 Atemmechanik

Die intranasale Flussdynamik und der Transport von Geruchspartikeln spielt eine große Rolle. Beim Schnüffeln werden Geruchspartikeln gesammelt und dann innerhalb der Nase transportiert. Bilateral werden Proben der Geruchsumgebung aufgenommen. Durch Kontrolle des nasalen Luftflussmusters wird bestimmt, ob die geruchsgeladene Luft die olfaktorische Region der Nase erreicht. Die Geruchswahrnehmung des Hundes scheint von der nasalen Luftwegarchitektur und dem Geruchstofftransport eines einzigartigen Luftflussmusters abhängig zu sein, der während des Schnüffeln gewährleistet ist. Die Kontrolle des Luftflusses erfolgt durch eine ausgeprägte Vaskularisation des respiratorischen Teiles der Nase. Durch beträchtliche Volumenunterschiede mittels Konstriktion und Dilatation der Gefäße kommt es auch zu großen Variationen in der Dimension der Luftwege.

Alle Makrosomen haben einen dorsalen Gang, der an den respiratorischen Luftwegen vorbei und zu einer olfaktorischen Nische führt. Beim Menschen ist die olfaktorische Region entlang des Hauptluftflusses lokalisiert und liegt nicht in einer hochentwickelten olfaktorischen Nische. Während der Ausatmung wird das olfaktorische Areal gesäubert. Dies ist beim Hund anders: Die Stimulation

durch die inspirierte Luft kann während der Expiration anhalten, weil das Luftflussmuster einen retronasalen Zugang zur olfaktorischen Nische verhindert [13].

7.2.5 Zentrale Geruchsbahnen

Im Riechkolben (Bulbus olfactorius) treten die olfaktorischen Rezeptorzellen in Form von Glomeruli mit sekundären Dendriten von Mitral- und Körnerzellen in Kontakt. Die Axone der Mitral- und Körnerzellen bilden dann den Traktus olfactorius auf beiden Seiten. Diese Struktur liegt im olfaktorischen Sulcus des basalen Vorderhirns, lateral des Gyrus rectus. Sie übermittelt olfaktorische Informationen zu einer großen Zahl von Hirnarealen in der hinteren orbitalen Oberfläche des frontalen Lappens und der dorsomedialen Oberfläche des Temporallappens. Gemeinsam werden diese Projektionsorte primärer olfaktorischer Cortex genannt, da diese Regionen alle direkten Input vom Bulbus olfactorius erhalten. Diese Strukturen beinhalten (von vorne nach hinten) den vorderen olfaktorischen Nukleus, den olfaktorischen Tuberkel, den vorderen und hinteren piriformen Cortex, das Amygdala und den vorderen entorhinalen Cortex. Sie sind alle untereinander durch ein assoziatives intrakortikales Fasersystem verbunden. Der piriforme Cortex ist die größte der zentralen olfaktorischen Regionen und ist der Hauptempfänger von Informationen aus dem Riechkolben [22].

Höherrangige Projektionen, die aus jeder dieser primären Strukturen aufsteigen, laufen in sekundäre olfaktorische Regionen im orbitofrontalen Kortex, der vorderen Inselregion, dem basolateralen Mandelkern, dem Hypothalamus, dem mediodorsalen Thalamus und dem Hippokampus zusammen. Dieses komplexe Netzwerk von Verbindungen stellt die Basis für geruchsgeleitete Regulationen des Verhaltens, der Futteraufnahme, von Emotionen, autonomen Zuständen und Erinnerung dar. Zusätzlich senden alle Regionen des primären olfaktorischen Cortex (außer dem olfaktorischen Tuberkel) ständige Rückkopplungsprojektionen an den Riechkolben zurück [22]. Bisher wurden die an Tieren durchgeführten Untersuchungen der Geruchsbahnen auch für Erklärungen der Physiologie des Geruchsinns des

Menschen hinzugezogen. Moderne neurophysiologische bildgebende Techniken haben aber gezeigt, dass beim Menschen die sekundären olfaktorischen Regionen im orbitofrontalen Kortex weiter vorne lokalisiert zu sein scheinen als entsprechende Regionen beim Affen. Dieser Lokalisationswechsel könnte durch substantielle Veränderungen der sensorischen Integration auf Kosten gewisser olfaktorischer Fähigkeiten stattgefunden haben, sogar zur Einengung des menschlichen Repertoire geruchsgeleiteter Unterscheidungen und Verhaltens geführt haben [22].

Bei hundeartigen Tieren zeigten Messungen des Riechkolbens, dass die relative Größe bezogen auf das Körpergewicht größer ist, als bei anderen fleischfressenden Säugetieren. Bezogen auf das Gehirn sind nur die hyänenartigen Fleischfresser den hundeartigen an relativer Größe des Riechkolbens überlegen [19].

7.3 Medikamenteneinnahme der Studienteilnehmer

Insgesamt wurden in der untersuchten Kohorte 112 Wirkstoffe identifiziert, die von Patienten bzw. Probanden zum Untersuchungszeitpunkt eingenommen wurden und somit bei der Atemprobenanalyse einen potentiellen Störfaktor darstellen.

Folgende Wirkstoffe wurden identifiziert:

Thyroxin	Digoxin	Risedronsäure
Carbimazol	Verapamil	Acetylcystein
Bisoprolol	Diltiazem	Ketotifen
Metoprolol	Amiodaron	Östrogene
Carvedilol	Isosorbiddinitrat	Kontrazeptiva
Nebivolol	Tiotropiumbromid	Citalopram
Ramipril	Ipratropiumbromid	Amitriptylin
Lisinopril	Fenoterol	Opipramol
Enalapril	Fluticason	Doxepin
Captopril	Salmeterol	Lithium
Amlodipin	Budesonid	Mirtazapin
Felodipin	Formetorol	Olanzapin
Nifedipin	Beclomethason	Penytoin
Hydrochlorothiazid	Ciclesonid	Zopiclon
Spirolacton	Indicaterol	Bromazenil
Triampteren	Salbutamol	Zolpidem
Torasemid	Theophyllin	Promethazin
Furosemid	Prednisolon	Omeprazol
Allopurinol	Dexamethason	Pantoprazol
Xipamid	Montelukast	Esomeprazol
Candesartan	Omalizumab	Simvastatin
Irbesartan	Methotrexat	Pravastatin
Valsartan	Folsäure	Ezetimib
Telmisartan	Gabapentin	Acetylsalicylsäure

Clopidogrel	Metamizol	Calcium
Marcumar	Paracetamol	Magnesium
Insulin	Diclofenac	Kalium
Glimepirid	Ibuprofen	Topiramid
Glibenclamid	Tetrazepam	Propofol
Morphin	Pregabalin	Nystatin
Fentanyl	Levodopa	Flupredniden
Hydromorphon	Carbidopa	Pentoxifyllin
Oxycodon	Pramipexol	Gabapentin
Tilidin	Benserazid	Enoxaparin
Naloxon	Laktulose	Fondaparinux
Tramadolol	Macrogol	Metoclopramid
Dihydrocodein	Bisacodyl	
Codein	Tamsulosin	

Auf den nachfolgenden Abbildungen (Abb. 16-18) wurde für jeden Patienten bzw. Probanden (linke Spalte) jeder Wirkstoff markiert, der von ihm eingenommen wurde. Hierdurch entsteht eine graphische Darstellung der in den drei Untersuchungsgruppen eingenommenen Medikamente.

8. Danksagung

Diese Studie war nur möglich durch den Einsatz vieler Beteiligter. Ausdrücklich bedanken möchte ich mich bei...

...meinem Doktorvater PD Dr. med. Thorsten Walles für die jederzeit bereite praxisorientierte Betreuung und die Beantwortung meiner vielen Fragen,

...Prof. Dr. med. Godehard Friedel für die Unterstützung und Überlassung des Themas,

...Dr. med. Thomas Kyriss für das Zusammenbringen der Beteiligten und die kritischen Anregungen,

...dem Ideengeber Dr. med. Univ. Zürich Rainer Ehmann für die Zusammenarbeit und das Sammeln von Atemproben in seiner Praxis,

...dem Hundetrainer Uwe Friedrich für das professionelle, zeitaufwendige Training der Hunde und das zur Verfügung stellen der Räumlichkeiten für Training und Tests,

...der Hundeführerin Jutta Sagert für die Hilfe bei der Bestellung und Organisation der Materialien und Herstellung der Probenröhrchen,

...der Studienassistentin der Klinik Schillerhöhe Andrea Hofbauer für die Hilfe bei der Organisation und beim Sammeln der Atemproben,

...den Hundeführern Gabriele Oster, Franziska Bauer und nochmals Jutta Sagert für Zeit, Mühe und Engagement beim Training der Hunde,

...der Mitarbeiterin der Hundeschule TEAMCANIN Gaby Günther für Abstimmung und Organisation ,

...PD Dr. rer. nat. Jürgen Dippon für die statistische Auswertung der Daten und die Hilfe bei der Interpretation der Zahlen,

...meinem Ehemann Ramezanali Abdihanjani für die zeitliche Entlastung und moralische Unterstützung,

...meiner Kollegin Frau Dr. med. Geesche Somuncuoglu für die Hilfe bei der Bearbeitung der Bilder und der Abwicklung der Formalitäten,

...meinem Bruder Just Boedeker für das Lesen der Arbeit und die Anregungen aus fachfremder Perspektive,

...den Hunden „Bonnie“, „Hector“, „Benny“ und „Kessy“ für ihre gute Leistung und den Beweis ihres ausgezeichneten Geruchsinnes.

9. Tabellarischer Lebenslauf

Persönliche Daten

Name	Enole Boedeker
Geburtsdatum	05.02.1969
Geburtsort	Berlin-Dahlem

Schulbildung

1975 - 1979	Grundschule in Stuttgart-Sillenbuch
1979 - 1988	Geschwister-Scholl-Gymnasium Stuttgart-Sillenbuch Abschluss: Allgemeine Hochschulreife

Universitätsausbildung

1989 - 1995	Johannes-Gutenberg-Universität Mainz; Studium der Medizin
1995 - 1996	Eberhard-Karls-Universität Tübingen; Praktisches Jahr Bürgerhospital Stuttgart, Chirurgische Klinik Stuttgart-Feuerbach und Städtische Frauenklinik Berg in Stuttgart
03.05.1996	Ärztliche Prüfung (Dritter Abschnitt)

Berufliche Tätigkeit

01.08.1996 - 31.01.1998	Chirurgische Klinik Stuttgart-Feuerbach: Klinik für Allgemein-, Gefäß- und Unfallchirurgie Ärztin im Praktikum
-------------------------	--

01.05.1998 – 31.11.1999 Praxis Dr. Steeb in Stuttgart-Untertürkheim
 Arzt für Orthopädie mit Sportmedizin, Chirotherapie
 und medizinische Kräftigungstherapie

01.12.1999 – 31.10.2000 Abteilung für Thoraxchirurgie der Lungenfachklinik
 Schillerhöhe in Gerlingen

01.11.2000 – 30.04.2005 Bethesda Krankenhaus Stuttgart
 Chirurgische Abteilung (Unfall- und Allgemein-
 chirurgie)

Seit 01.05.2005 Lungenfachklinik Schillerhöhe in Gerlingen

Seit 22.08.2005 Fachärztin für Chirurgie

Seit 13.11.2008 Schwerpunkt Thoraxchirurgie

Fachkunde/ Zusatzbezeichnung

Seit 24.03.1998 Fachkunde Rettungsdienst

Seit 15.07.1998 Fachkunde Strahlenschutz auf dem Anwendungs-
 gebiet Notfalldiagnostik/ Extremitäten/ Schädel

Seit 21.05.2003 Zusatzbezeichnung Notfallmedizin

Seit 12.02.2010 Prüfarzt

Publikationen

Frühdetektion von Lungenkrebs mit Spürhunden: Voodoo und Schamanismus?
 Boedeker E, Ehmann R, Friedrich U, Walles T, Friedel G
 German Medical Science 2010; DOI: 10.3205/10dgt001

Canine scent detection in the diagnosis of lung cancer:
 Revisiting a puzzling phenomenon
 Boedeker E, Ehmann R, Friedrich U, Sagert J, Dippon J, Friedel G, Walles T
 European Respiratory Journal 2011; DOI: 10.1183/09031936.00051711

Vorträge

Frühdetektion von Lungenkrebs mit Spürhunden: Vodoo und Schamanismus?
Eröffnungssitzung der Gemeinsamen Jahrestagung der Deutschen,
Österreichischen und Schweizer Gesellschaft für Thoraxchirurgie 07.-
09.10.2010, Wien (Österreich)

Canine scent detection in the diagnosis of lung cancer: Revisiting a puzzling
phenomenon.

19th European Conference on General Thoracic Surgery, 5 – 8 June 2011,
Marseille (France)